Aus dem physiologischen Institut der
Universität München.
Direktor: Geheimrat Professor Dr. Otto Frank.

Neuere Theorien über den Mechanismus und Verlauf der biologischen Oxydationsvorgänge.

Inaugural-Dissertation

verfasst und der

hohen medizinischen Fakultät
der
Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität München

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Walter Haarmann

aus

Westerberg (Hannover).

★

1927
RUDOLPH MÜLLER & STEINICKE
MÜNCHEN

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität München. :: Referent: Professor :: Dr. med. et phil. A. Hahn. ::

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern!

Inhaltsverzeichnis.

Seite

A.) Einleitung 1

B.) Neuere biologische Oxydationstheorien 7

I.) Wielands Dehydrierungstheorie.

1.) Prinzip 7
2.) Modellstudien 7
3.) Dehydrierung durch Fermente . . . 10
4.) Die Rolle der Peroxyde bei der biologischen Oxydation. Theorie der Blausäurewirkung. 13
5.) Der biologische Dehydrierungsmechanismus 16
6.) Thermochemie der Hydrierungs- und Dehydrierungsvorgänge 20
7.) Wasserstoffakzeptoren 22
8.) Intermediärer Wasserstofftransport . . 23
a.) Das Phenol-Chinon-System . . 24
b.) Das Thiol-Disulfid-System. . . . 25

II.) Warburgs Sauerstoffaktivierungstheorie 27

1.) Prinzip 27
2.) Modellversuche 27
3.) Wirkung von Narkoticis 29
4.) Blausäurewirkung 29
5.) Mechanismus der Eisenkatalysen . . . 30

III.) Die kombinierte Wasserstoff- u. Sauerstoffaktivierungstheorie. 33

IV.) Kritik der neueren Atmungstheorien 34

1.) Bemerkungen zur Warburgschen Sauerstoffaktivierungstheorie 34
2.) Bemerkungen zur kombinierten Wasserstoff- u. Sauerstoffaktivierungstheorie . . . 37
3.) Bemerkungen zur Wielandschen Dehydrierungstheorie 38

C.) Der intermediäre Stoffwechsel.
I.) Methodik zum Aufsuchen von Zwischengliedern des Stoffwechsels 4
II.) Der Abbau der Fettsäuren . . . 4
III.) Der Abbau der Kohlehydrate .
1.) Abbau der Kohlehydrate über Milchsäure . 4
2.) Abbau der Kohlehydrate auf dem Nicht-Milchsäureweg 5
3.) Theorie über das Koferment der Milchsäureverbrennung 5
IV.) Abbau der Aminosäuren. . . 5
V.) Umwandlung der Kohlehydrate in Fett. 6

D.) Literaturverzeichnis 6

A.) Einleitung.

Die Theorien über den Mechanismus der physiologischen Oxydationsvorgänge behandeln das Problem der langsamen Verbrennung im Organismus. Die durch die exothermen Oxydationsprozesse freiwerdende Energie wird teils in Wärme, teils in mechanische Arbeit verwandelt, teils aber auch beim Aufbau von neuem Zellmaterial, zu Synthesen, verwendet.

Die dem Körper zugeführten Nährstoffe umfassen die grossen Gruppen der Kohlehydrate, Fette und Eiweisskörper. Auf dem Wege der Verdauung werden sie zu den Grundkörpern, zu einfachen Zuckern, zu Fettsäuren und Glyzerin und zu den Aminosäuren fermentativ hydrolytisch gespalten, und diese werden dann im Organismus zu den letzten Endprodukten, zu Kohlensäure, Wasser, Harnstoff und anderen Stoffen durch den molekularen Sauerstoff bei niedriger Temperatur abgebaut. Der molekulare atmosphärische Sauerstoff reagiert ausserhalb der Zelle mit den genannten Nährstoffen praktisch überhaupt nicht.

Schon seit Lavoisier beschäftigen sich die Physiologen und Chemiker mit dem Problem der langsamen Verbrennung im Organismus und suchen die Natur der hier wirkenden Kräfte zu ergründen. Um diese Wirkung des molekularen Sauerstoffs zu erklären, ist sehr frühzeitig die Hypothese aufgestellt worden, dass das reaktionsträge Sauerstoffmolekül durch irgend einen Zellbestandteil in einen aktiven Zustand übergehen müsse.

Schönbeins Ozontheorie. Im Jahre 1845 beobachtete Schönbein, dass das von ihm entdeckte Ozon die Fähigkeit besitzt, Guajak zu bläuen und Jodkali zu oxydieren. In einer Reihe anderer Arbeiten untersuchte er die Oxydation des Guajakharzes durch verschiedene Oxydationsmittel und fand weiter, dass die blaue Farbe unter dem Einfluss von reduzierenden Stoffen verschwindet. Einige Jahre später zeigte er, dass auch die Kartoffelknolle das

Vermögen besitzt, Guajak zu bläuen und Jodkali zu Jod zu oxydieren, wodurch eine Blaufärbung der Kartoffel durch die gebildete Jodstärke hervorgerufen wird. Kochen der Kartoffel zerstört ihre Oxydationskraft. Zur Erklärung dieser Oxydationswirkungen stellte er zwei Hypothesen auf: Entweder enthält die Kartoffel eine dem Ozon analoge Substanz oder einen Stoff, der den Luftsauerstoff aktiviert. Später entdeckte er, dass eine grosse Anzahl von Pflanzen- und Tiersäften Wasserstoffsuperoxyd unter Sauerstoffentwicklung zersetzt und in Gegenwart von Wasserstoffperoxyd Guajak bläut. Er zog hieraus den Schluss, dass die Wasserstoffperoxydzersetzung und die Guajakbläuung auf dieselbe Ursache zurückzuführen seien. Er nahm an, dass die sauerstoffaktivierenden Körper im Pflanzen- und Tierorganismus eine grosse Rolle spielen und dass das Fehlen dieser Stoffe im Blute das Leben der Tiere unmöglich mache. Daraufhin sucht Schönbein Wasserstoffperoxyd und Ozon im Blute nachzuweisen, jedoch ohne Erfolg. Auch in der Folge ist niemals Ozon im Blute angetroffen worden, und es ist nicht einzusehen, warum der Organismus ein so energisches Agens wie Ozon zu seinen gut regulierten Oxydationsprozessen verwenden solle. Die Schönbeinsche Ozontheorie ist daher sehr schnell verlassen worden.

Hoppe-Seylers Theorie. (69) Nach der Ansicht von Hoppe-Seyler werden die biologischen Oxydationen durch atomistischen Sauerstoff bewirkt. Das Sauerstoffmolekühl werde durch nascierenden Wasserstoff in den Geweben in Atome gespalten. Er weist auf die tatsächliche Bildung von reduzierenden Stoffen im Organismus hin. Diese Stoffe, die selbst leicht oxydiert werden, zersprengen den Sauerstoff in Atome. Mit dem einen Atom verbinden sie sich selbst, das andere Sauerstoffatom in statu nascendi ist besonders geeignet, Oxydationsvorgänge auszulösen.

Traubes Theorie. (143—167) Traube nimmt eine Aktivierung des Sauerstoffs durch Autoxydatoren unter Bildung von Wasserstoffsuperoxyd an. Im Gegensatz zur Ansicht von Hoppe-Seyler werden nur ganze Sauerstoffmoleküle ohne vorhergehende Spaltung in Atome bei der Autoxydation aufgenommen. Die autoxydable Substanz zerlegt das Wasser in Gegenwart von molekularem Sauerstoff in H- und OH- und verbindet sich mit dem Hydroxyl. Der Wasserstoff tritt an das ganze Sauerstoffmolekül, und es entsteht Wasserstoffperoxyd. Das so gebildete Wasserstoffperoxyd dient dann zur Oxydation von schwer angreifbaren („dysoxydablen")

Substanzen, wie es die Nahrungsstoffe sind. Das Hydroperoxyd ist demnach ein primäres Oxydationsprodukt. Das Reaktionsschema lässt sich durch folgende Gleichung zum Ausdruck bringen:

$$A + \begin{matrix} OHH \\ OHH \end{matrix} + \begin{matrix} O \\ \| \\ O \end{matrix} = A \begin{matrix} / OH \\ \backslash OH \end{matrix} + \begin{matrix} HO \\ | \\ HO \end{matrix},$$

wobei die autoxydable Substanz mit A bezeichnet ist.

Schon sehr früh gelangt Traube zu der Annahme, dass Fermente (143) eine wichtige Rolle bei den biochemischen Vorgängen spielen. Im Jahre 1874 gebraucht er zum ersten Male den Ausdruck „Oxydationsfermente“ oder Sauerstoffüberträger. Die Wirkung dieser Fermente vergleicht er mit der des Platinmohrs. Er stellt die Behauptung auf, dass die Oxydationsfermente chemisch nicht verändert werden und somit nur die Rolle eines Katalysators spielen, indem sie abwechselnd Sauerstoff aufnehmen und dann an andere Körper wieder abgeben.

In der Folgezeit wird nun eifrig nach Oxydationsfermenten gesucht. Als erster zeigte Jaquet (70), dass Benzylalkohol und Salicylaldehyd im Organismus durch wasserlösliche Organextrakte bei Gegenwart von Luft oxydiert werden. Durch Erhitzen auf Siedetemperatur verliert der Extrakt diese Fähigkeit. Er zieht daraus den Schluss, dass die Oxydation im lebenden Organismus durch diese Fermente zustandegebracht werden.

Die spezifische Wirkung der Fermente beweist Bertrand (23, 24) im Jahre 1894. Von ihm stammt auch der Ausdruck „Oxydasen“ für die verschiedenen spezifischen Oxydationfermente. Die Entdeckung der Tyrosinase durch ihn ist der erste Fall eines Oxydationsfermentes mit spezifischer Wirkung. Die Zahl der spezifischen Oxydasen ist bei einem fortgesetzten systematischen Studium ihrer Eigenschaften stark gestiegen. Es seien hier nur die Xanthinoxydase, Urikase, Alkoholoxydase und die Polyphenoloxydase erwähnt.

Engler-Bachs Theorie. Eng verwandt mit der Traubeschen Hypothese ist die gegen Ende des vorigen Jahrhunderts von C. Engler (39) und unabhängig von ihm von A. Bach (5—14) aufgestellte Theorie, nach der Peroxyde, die die charakteristische Gruppe -O-O- enthalten, als primäre Oxydationsprodukte ohne Mitwirkung von Wasser entstehen. Nach ihr wirkt der Sauerstoff ebenfalls, wie nach der Ansicht von Traube, nicht in atomistischer, sondern in molekularer Form auf die autoxydable Substanz ein. Das durch

Anlagerung des ganzen Sauerstoffmoleküls entstehende Peroxyd bezeichnet Engler als „Moloxyd". Aus dem Peroxyd AO_2 kann sich in Gegenwart von Wasser sekundär Wasserstoffperoxyd bilden. Das Superoxyd bewirkt die Oxydation der nicht autoxydablen Substanz, wobei es selbst in die Oxydstufe AO übergeht. Nach Engler besteht auch die Möglichkeit, dass der Autoxydator regeneriert wird, indem er ein zweites Molekül einer dysoxydablen Substanz oxydiert. Den Autoxydator bezeichnet Engler als Oxydase, das entstandene Peroxyd als Superoxydase.

Bach und Chodat (5, 6, 32) haben die oben genannte Theorie auf die biologischen Oxydationserscheinungen ausgedehnt.

Oxygenasen, Peroxydasen, Katalasen.

Gewisse in den Geweben vorkommende Stoffe, wahrscheinlich Eiweisskörper, besitzen die Fähigkeit, in Gegenwart von gasförmigem Sauerstoff in die Peroxydform überzugehen, und werden als Oxygenasen bezeichnet. Die alleinige Wirkung dieser Peroxyde ist für eine schnelle Oxydation zu schwach. Besondere Fermente, die Peroxydasen, müssen zuvor die Peroxyde aktivieren, um ihren Sauerstoff an andere Stoffe abzugeben, wodurch dann eine Oxydation stattfindet. Die Oxydasen bestehen also aus zwei Komponenten: der Oxygenase und der Peroxydase. Keinen Einfluss auf die Oxydationsvorgänge haben die Katalasen. Die Bildung von Hydroperoxyd durch Umsetzung der Peroxyde mit Wasser in den Zellen ist sehr wahrscheinlich. Da das entstehende Wasserstoffperoxyd für die Zellen ein starkes Gift ist, wird es durch Schutzvorrichtungen des Körpers, durch Hilfsfermente, die Katalasen, unschädlich gemacht, indem es in Wasser und Sauerstoff zerlegt wird. Man findet daher in der Zelle neben Peroxydasen immer auch Katalasen. Jede Oxygenase kann durch ein organisches oder anorganisches Peroxyd ersetzt werden. Durch Zusatz von Peroxydase zu einem derartigen Peroxyd entsteht ein System, das mit einer Oxydase eine vollkommene Analogie aufweist. Oxygenasen, also Peroxyde, in den Geweben nachzuweisen, ist nicht gelungen. Das mag seinen Grund in der starken Labilität dieser Stoffe haben. Dagegen sind die Peroxydasen des Pflanzen- und Tierreiches genau untersucht und in hochaktiver Form durch fraktionierte Fällung mit Alkohol, Bleiacetat, Aceton und andere Substanzen und Dialysieren von Bach (79), Euler und Bolin (49, 50) und Willstätter und Stoll (184) erhalten worden. Die einzelnen

Peroxydasen besitzen die für Fermente im allgemeinen charakteristischen Eigenschaften in Bezug auf Ursprung, Herstellung, Zerstörung durch Hitze, Spezifität, Fällung durch Alkohol u. s. w.

v. Czyhlarz und v. Fürth (33) ist es gelungen, mit Hilfe der früher von Bach und Chodat angewendeten Jodreaktion (Abspaltung von Jod aus mit Essigsäure angesäuerter Jodkalilösung bei Gegenwart von Wasserstoffperoxyd und Bestimmung des Jods durch Stärkekleister) das Vorhandensein von Peroxydasen in den lymphoiden Organen (Knochenmark, Milz, Lymphdrüsen) und den Leukozyten nachzuweisen. Battelli und Stern (15) haben bei Verwendung von Aethylhydroperoxyd, das von der Katalase der Gewebe nicht gespalten wird, anstelle von Wasserstoffperoxyd gezeigt, dass alle Gewebe der höheren Tiere die Oxydation des Jodwasserstoffs durch Aethylhydroperoxyd beschleunigen. Da auch das Hämoglobin die Oxydation des Jodwasserstoffs durch Aethylhydroperoxyd bewirkt, haben sie statt Jodkali Ameisensäure verwandt, die zu Wasser und Kohlensäure oxydiert wird.

Sowohl innerhalb des Organismus als auch ausserhalb desselben vorkommende Körper, die, ohne Fermente im strengen Sinne des Wortes zu sein, wie solche wirken, werden als Pseudoperoxydasen bezeichnet. Ein derartiger Stoff ist das Hämoglobin. Es ist daher wegen seiner allgemeinen Verbreitung im Körper oft nicht leicht, eine Peroxydase von dieser Pseudoperoxydase zu unterscheiden. Dass es das Hämoglobin selbst ist und nicht etwa eine Verunreinigung, hat Willstätter (187) bewiesen.

Auch gewisse Metallverbindungen können die Rolle von Peroxydasen übernehmen (Bach 9). Bei der Guajakreaktion, die als Webersche Blutprobe zum Nachweis von Blut dient, wird die Guajakonsäure durch Oxydation blau gefärbt. Das Terpentinöl liefert das Peroxyd und kann durch Wasserstoffperoxyd ersetzt werden. Der Blutfarbstoff wirkt durch seinen Eisengehalt und kann durch viele kolloidale Verbindungen des Eisens und anderer Metalle, sowie auch durch alle Substanzen, die eine Sulfocyangruppe enthalten, vertreten werden. (29).

Nach der Ansicht von Bertrand (23, 24) beruht die Wirkung der pflanzlichen Oxydationsfermente auf ihrem Gehalt an Mangan. Trillat hat (148) auf der Bertrandschen Theorie fussend, „künstliche Oxydasen“ aus Mangansalzen in alkalischem Medium und kolloidalen Stoffen hergestellt, die wie Oxydationsenzyme wir-

ken. Diese künstlichen Oxydasen ähneln in ihrer Empfindlichkeit gegen Temperaturerhöhung, der Fällung durch Alkohol, ihrer Wirksamkeit in geringen Konzentrationen und ihrer gewissen Spezifität sehr den natürlichen Oxydasen. Nach Euler und Bolin (50) aktivieren die Salze gewisser organischer Säuren, wie die Tartrate und besonders die Citrate, die Oxydationsfähigkeit von Mangansalzen. Auch die Oxydation von autoxydablen Substanzen kann durch die Gegenwart von minimalen Mengen von Eisensalzen katalytisch beschleunigt werden, z. B. des Lezithins (132, 135), sowie gewisser Thioverbindungen (84, 135, 92, 164). Diese Ergebnisse können jedoch nicht zur Deutung der Wirkung der pflanzlichen Oxydationsfermente herangezogen werden, seitdem Bach (7, 9) eine sehr aktive Oxydase und auch Peroxydase hergestellt hat, die weder Eisen noch Mangan enthielt. Desgleichen haben Willstätter und Pollinger (188) die Eisenfreiheit einer Peroxydase gezeigt.

Kritik der Sauerstoffaktivierungstheorien. Gegen die Annahme, dass die Aktivierung des Sauerstoffs innerhalb der Zelle notwendig sei, biologische Oxydationen auszulösen, ist als erster Schmiedeberg (124) 1881 aufgetreten. Er hat auf die bekannte Tatsache hingewiesen, dass gewisse leicht oxydierbare Stoffe, wie z. B. der gelbe Phosphor im Organismus nicht verbrannt werden und dass auch Substanzen, wie Oxalsäure, Ameisensäure, Formaldehyd, die von den gewöhnlichen Oxydationsmitteln äusserst leicht bis zu den Endprodukten der Verbrennung abgebaut werden, in der Zelle oxydativen Einflüssen gegenüber sehr widerstandsfähig sind. Nach seiner Ansicht sichert nicht die Zustandsänderung des molekularen Sauerstoffs, sondern eine Veränderung der oxydablen Substanz, auf die hierdurch der Sauerstoff leichter einwirken kann, die biologische Oxydation. Gegen diese Hypothese kann eingewendet werden, dass das System Enzym plus aktivierter Sauerstoff spezifisch wirkt. Ein derartiger Fall von Aktivierung ist aber in der reinen Chemie bisher nicht bekannt.

B.) Neuere biologische Oxydationstheorien.

I.) Wielands Dehydierungstheorie.

1.) Prinzip.

Im Jahre 1913 hat H. Wieland die Theorie aufgestellt (171), dass die vitalen Oxydationen nicht unter der katalytischen Mitwirkung von sauerstoffaktivierenden Fermenten verlaufen, sondern dass die Fermentwirkung sich vielmehr auf das Substrat selbst erstreckt, indem die an der Reaktion beteiligten Wasserstoffatome aktiviert werden, die erst dann mit dem molekularen Sauerstoff reagieren können. Der Sauerstoff hat lediglich die Rolle, die reaktionsfähig gemachten Wasserstoffatome zu binden. Er dient als nicht spezifischer Akzeptor für aktivierten Wasserstoff, ohne in den Komplex des oxydierten = dehydierten Substratmoleküls zu treten. Der Oxydationsprozess ist nach Wielands Ansicht ein Dehydierungsprozess, der das gleiche Endproduk liefert.

Ist diese Hypothese richtig, dann muss sich die Dehydrierung des Stoffes auch abspielen, wenn der Sauerstoff durch andere geeignete Wasserstoffakzeptoren ersetzt wird, wie z. B. durch Farbstoffe, die leicht Wasserstoff unter Entfärbung addieren. Es ist in der Tat Wieland gelungen, eine ganze Reihe von sog. Oxydationen sauerstofflos durchzuführen. Es ist hierfür nötig, dass sowohl ein geeigneter Katalysator wie auch ein geeigneter Wasserstoffakzeptor zugegen sind. Beide Eigenschaften in sich vereint das Palladiumschwarz. Beim Studium von biologischen Oxydationen hat er als Katalysator Zellgewebe und als Wasserstoffakzeptor Stoffe benutzt, die den fortzunehmenden Wasserstoff leicht binden. Viel benutzt werden vor allem Methylenblau und Chinon. Grossen Vorteil bietet hier das Methylenblau, da die chemische Reaktion durch eine in die Augen fallende Farbveränderung direkt verfolgt werden kann, indem der Farbstoff in seine farblose Leukobase übergeht.

2.) Modellstudien.

Als Modellstoffe hat Wieland feinverteilte Platinmetalle verwendet. Die aktivierende Wirkung dieser Metalle auf Wasserstoff ist schon seit langem bekannt gewesen. Heute ist erwiesen, dass

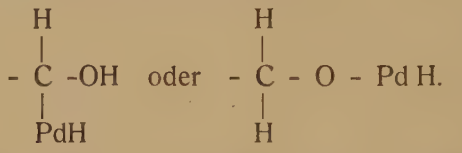
das erste Produkt der Knallgasvereinigung, des einfachsten Verbrennungsvorganges, das Wasserstoffsuperoxyd ist (147).

$$O{=}O + 2H = HO - OH$$

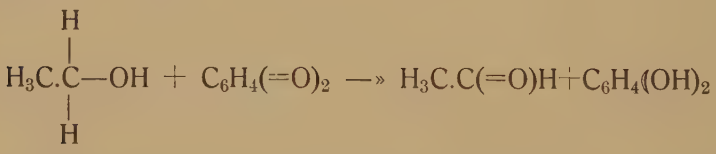
Erst die 2. Hydierungsstufe führt zum Wasser.

$$HO - OH + 2H = 2H_2O$$

Selbst der gebundene Wasserstoff wird durch feinverteilte Platinmetalle aktiviert. Die seit längerer Zeit bekannte katalytische Oxydation der primären Alkohole zu Aldehyden durch Sauerstoff bei Gegenwart von Platin- oder Palladiummohr ist auf eine Aktivierung der Wasserstoffatome, die dann vom molekularen Sauerstoff gebunden werden, zurückzuführen (167). Die Mittelstufe ist eine labile komplexe Metallverbindung. Die Reaktion ist reversibel. Alkohol plus Palladiumschwarz geben:

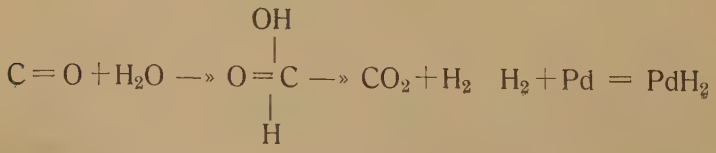


Fügt man zu dieser Emulsion Chinon, so geht es rasch in Hydrochinon über.



Bei Propylalkohol und Benzylalkohol tritt der Aldehyd schon nach kurzem Stehen mit Palladium allein auf.

Die bisher als typischer Autoxydationsvorgang angesehene Verbrennung des Kohlenoxyds hat sich als Dehydrierungsreaktion erwiesen (168). Kohlenoxyd geht bei völligem Abschluss von Luft bei Gegenwart von Palladium in Kohlendioxyd über. Der Vorgang ist so, dass zuerst Ameisensäure entsteht, die dann weiter zu Kohlendioxyd dehydriert wird.



Dieser Vorgang ist auch bei heisser Verbrennung anzunehmen. Der Wasserstoff wird zu Wasser verbrannt, das von neuem in den Reaktionsmechanismus eingreift und die Rolle eines Katalysators spielt. Kohlenoxyd verbrennt deshalb auch nur bei Gegenwart von geringen Spuren von Wasser. Bei der Verbrennung bildet sich in der Flamme durch Oxydation des Wasserstoffs, der bei der Zerlegung der Ameisensäure entsteht, Wasserstoffperoxyd. Die umgekehrte Reaktion

$$CO_2 + H_2 = HCOOH$$

wird auch katalysiert.

Die katalytische Umwandlung des Schwefeldioxyds in Schwefeltrioxyd (169) nach dem Kontaktverfahren nimmt wahrscheinlich einen ganz analogen Verlauf.

$$SO_2 + H_2O \longrightarrow O_2S(H)(OH) \longrightarrow SO_3 + H_2 \quad H_2 + O = H_2O$$

Der Wasserstoff reduziert das SO_2 im Palladium zu Schwefel. Diesen fand Wieland im Palladium. Das Kontaktverfahren der Schwefelsäure geht nur bei Gegenwart von Wasser vor sich.

Von grosser Bedeutung für die Erklärung der Wielandschen Theorie ist der Oxydationsmechanismus der Aldehyde zu Karbonsäuren (170, 173, 181, 182). Beim Übergang der Aldehyde in die Säuren sind streng zwei Verlaufsmöglichkeiten zu unterscheiden. Einmal kann die Reaktion eine echte Autoxydation, also durch Aufnahme von molekularem Sauerstoff bedingt sein, oder aber eine gewöhnliche Oxydation d. i. Dehydrierung.

Bei der Autoxydation entstehen Peroxyde und Persäuren, die isoliert worden sind, als Zwischenprodukte. So geht z. B. Acetaldehyd durch Autoxydation trocken über das Acetoperoxyd in Acetopersäure über. Nach Zusatz von Wasser entsteht die Essigsäure, indem die Acetopersäure für das Adehydhydrat die Rolle als Wasserstoffakzeptor übernimmt.

$$CH_3.C(=O)H + O_2 \longrightarrow CH_3.C(H)(O)(O) \longrightarrow CH_3.C(=O)O\text{-}OH$$

Acetoperoxyd — Acetopersäure

$$CH_3.C(=O)O.OH + CH_3.\overset{\overset{OH}{|}}{\underset{\underset{H}{|}}{C}}-OH \longrightarrow 2\ CH_3.COOH + H_2O$$

Die Dehydrierung verläuft über das Aldehydhydrat. Den Beweis hat Wieland an einigen schönen Beispielen erbracht. Trockenes Silberoxyd, das leicht seinen Sauerstoff abgibt, reagiert in Benzollösung mit Chloralhydrat sehr schnell. Der reine Aldehyd, das Chloral, bleibt dabei unverändert, wird aber schnell oxydiert, wenn man zum Reaktionsgemisch ein wenig Wasser fügt. Formaldehyd geht auch trocken mit Silberoxyd in CO und H_2O über. Eine Wasseraddition ist hier nicht nötig, da zwei Wasserstoffatome vorhanden sind.

$$H.C(=O)H \longrightarrow CO + H_2$$

Durch diese Versuche ist der Beweis erbracht, dass die Oxydation des Aldehyds zu Karbonsäuren über das Aldehydhydrat verläuft und eine Dehydrierungsreaktion ist.

Die sauerstofflose Oxydation des Aldehyds mit Palladium als Dehydrierungsmittel führt ebenfalls zu Säure. Der Wasserstoff geht ans Palladium. Fügt man Luft hinzu, so verbrennt der absorbierte Wasserstoff. Die Rolle des Luftsauerstoffs kann Benzochinon oder Methylenblau übernehmen.

Auch biologisches Material wird bei Anwesenheit von Palladiumschwarz als Katalysator und einem Wasserstoffakzeptor abgebaut. Aus Milchsäure entsteht auf diese Weise Brenztraubensäure, daneben CO_2 und H_2. Glukose gibt mit Methylenblau und Palladium rasch CO_2. Diese Reaktion ist nie vollständig, da durch das Palladium auch die Leukobase dehydriert wird. Milchsäure tritt bei der Reaktion nicht auf.

3.) Dehydrierung durch Fermente.

Nach einer ausgedehnten Kenntnis der Oxydationsphänomene, wie sie organische Systeme zeigen, hat Wieland sich dem Studium der biologischen Oxydationen zugewandt. Die bekannte Fähigkeit tierischer Gewebe, Farbstoffe zu Leukobasen und Nitrate zu Nitriten

zu reduzieren, beweist ein Reduktionsvermögen der Zelle durch aktivierten Wasserstoff und beruht auf der Wirkung von Enzymen.

Bei der Vergärung des Alkohols zu Essigsäure durch das Enzym der Essigsäurebakterien können anstelle des Sauerstoffs auch andere Wasserstoffakzeptoren verwandt werden. Bei Gegenwart von Methylenblau oder Chinon zur Bindung des aktivierten Wasserstoffs wird der Alkohol sauerstofflos vergoren. Hierbei bildet sich eine der gebildeten Essigsäure äquivalente Menge Hydrochinon, bzw. wird eine äquivalente Menge Methylenblau zur Leukobase hydriert. Auch Glukose wird durch das Ferment der Essigsäurebakterien mit Methylenblau sauerstofflos zu CO_2 und H_2O, wenigstens teilweise, abgebaut. Zu seinen Versuchen hat Wieland teils frisches Bakterium aceti, teils Bakterienpulver nach Abtötung der Bakterien durch Alkohol und Aether benutzt. Die gebildete Essigsäure hat er als essigsaures Silber analysiert.

Oxydoreduktionen.

Wie oben gezeigt, ist die sauerstofflose Oxydation gleichzeitig von einem Reduktionsprozess begleitet, wenn wir die Veränderung des Wasserstoffakzeptors betrachten. Chinon ist zu Hydrochinon, Methylenblau zu Leukomethylenblau, Nitrat zu Nitrit reduziert worden. Auch die Oxydation durch Sauerstoff, der natürlich der biologisch wichtigste Wasserstoffakzeptor ist, macht davon keine Ausnahme, indem Wasser nichts anderes ist wie das Hydrierungsprodukt des Sauerstoffs. Jede reduzierende Wirkung ist nur ein Teilvorgang einer Oxydation. Oxydierende Fermente und reduzierende Fermente sind identisch und nach Wielands Theorie Dehydrasen.

Die Hypothese von der Sauerstoffaktivierung kommt mit dieser einfachen Deutung nicht aus. Sie muss zur Erklärung zwei ganz verschieden wirkende Enzyme zu Hilfe nehmen, eine „Oxydase“ und eine „Reduktase“. Das stöchiometrische Ergebnis der sauerstofflosen Essigsäuregärung von Hydrierung und Dehydrierung vermag sie nicht zu erklären.

Die Auffassung, dass Oxydations- und Reduktionsenzyme identisch sind, wird auch von Battelli und Stern (22) angenommen. Sie treten für eine hydroklastische Reaktionsweise mit gekoppelten Oxydoreduktionen ein. Die Funktion der Fermente, von ihnen „Oxydone“ genannt, besteht nach ihnen darin, die Ionen des Was-

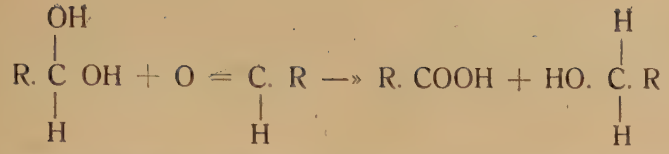
sers zu spalten bzw. an verschiedenem Substrat zu entladen. Auf der einen Seite tritt dann Oxydation, auf der anderen Seite Reduktion ein. Diese Theorie ist jedoch abzulehnen, da sie die Beteiligung des Hydrates wie bei den Aldehyden nicht benötigt. Durch die in Freiheit gesetzten Hydroxylgruppe müsste aktiver Sauerstoff in Form von Wasserstoffperoxyd entstehen. Durch geringe Mengen von Blausäure wird nun der aktive Sauerstoff ausgeschaltet. Thunberg (138) hat, von der Cyanoinsensibilität der Methylenblaureduktion ausgehend, bewiesen, dass die Methylenblaureduktion nicht als durch eine hydroklastische Reaktion bedingt gedeutet werden kann.

Die Schardingersche Reaktion. (172, 173)

Dass Fermentprozesse von scheinbar ganz verschiedener Natur von demselben Ferment geleistet werden, zeigt die Untersuchung des Schardingerschen Enzyms. Schardinger (119) machte 1902 die Beobachtung, dass Methylenblau in wässeriger Lösung durch frische Milch bei Gegenwart von Formaldehyd entfärbt wird. Wegen dieser Eigenschaft ist das dabei wirksame Ferment als „Aldehydase" angesehen worden. Der Farbstoff ist bei dieser Dehydrierungsreaktion zuerst als Wasserstoffakzeptor erkannt worden.. Er muss also auch durch molekularen Sauerstoff ersetzbar sein, was in der Tat der Fall ist. Sehr geeignet zu Versuchen ist der Salicylaldehyd, weil die entstehenden Produkte, Salicylsäure und Saligenin (Salicylalkohol), durch das Enzym nicht weiter verändert werden und leicht quantitativ bestimmbar sind. Wird der Salicylaldehyd in sauerstoffreier Milch gelöst, so erfolgt bei Abwesenheit von Methylenblau die sog. Cannizzarosche Reaktion, indem aus zwei Molekülen Aldehyd je ein Molekül Säure und Alkohol als Produkt einer intermolekularen Dehydrierung entstehen. Der freie Aldehyd ist in wässeriger Lösung mit seinem Hydrat in einem Gleichgewicht:

$$R\text{-}C\,(=O)\,H + H_2O \rightleftharpoons R\text{-}C(OH)_2\text{-}H$$

Die ungesättigte Carbonylgruppe befähigt ihn, aktivierten Wasserstoff an der Doppelbindung anzulagern, wobei er selbst in den primären Alkohol übergeht.



Bei Gegenwart von Luft bildet sich mehr Salicylsäure als ohne Luft. Dafür wird aber weniger Saligenin gebildet, da jetzt die Mutasereaktion in den Hintergrund tritt. Würde ebensoviel Saligenin entstehen wie ohne Luft, so wäre neben der Aldehydmutase noch eine Reduktase anzunehmen. Wichtig ist der Zusammenhang beider Reaktionen. Das eine Ferment, die Dehydrase, reduziert, oxydiert und wirkt als Aldehydmutase. Mit Methylenblau werden viel grössere Mengen Salizylsäure gebildet, während die Saligeninbildung ganz minimal ist. Das Methylenblau nimmt so rasch Wasserstoff aus dem Salicylaldehyd, dass keine Zeit für die Mutasefunktion desselben Fermentes mehr bleibt.

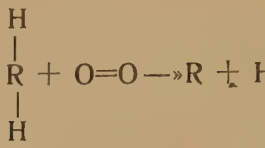
Stehen, Luft und Methylenblau schädigen das Ferment. Luft und vor allem Sauerstoff erzeugen mehr Säure, als durch Dismutation in Stickstoff entsteht. Doch ist hier die Giftwirkung am stärksten, so dass die Reaktion bald zum Stillstand kommt. Für die Einheit des Fermentes spricht die Tatsache, dass alle drei Fermentwirkungen in gleichem Masse stets zusammen geschädigt werden.

Besonders bei den Gärungsvorgängen spielt die Mutasefunktion des dehydrierenden Fermentes eine bedeutende Rolle.

4.) Die Rolle der Peroxyde bei der biologischen Oxydation. Theorie der Blausäurewirkung.

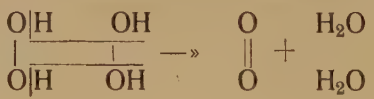
Das erste Produkt der Hydrierung des molekularen Sauerstoffs ist das Wasserstoffperoxyd. Nach Wielands Theorie muss es auch bei Oxydationsprozessen im Organismus in erster Phase auftreten, indem aktivierter Wasserstoff sich mit molekularem Sauerstoff als Akzeptor vereinigt. Seine Entstehungsweise ist jedoch ganz anders, wie sie in der älteren Auffassung der Autoxydation, vor allem von Traube und Engler, geäussert wurde. Nach Traubes Ansicht reagiert der Sauerstoff mit dem Wasser unter Bildung von Wasserstoffperoxyd, das dann die Oxydation der dysoxyda-

blen Substanz bewirkt, während es nach Engler sekundär aus dem durch Autoxydation entstandenen „Moloxyd“ durch Umsetzung mit Wasser sich bildet. Nach Wieland entsteht es nur nach folgender Reaktion:



also durch Hydrierung des Sauerstoffs durch den aktivierten Wasserstoff der oxydablen Substanz.

Die Beseitigung dieses starken Zellgiftes ist die Aufgabe der Katalasen, deren weite Verbreitung in der Zelle von Tier und Pflanze bereits Schönbein feststellte, deren Fermentwirkung aber erst von O. Loew (83) genau untersucht wurde. Das Hydroperoxyd wird durch ihre Tätigkeit rasch in Wasser und Sauerstoff gespalten. Dadurch wird gleichzeitig Sauerstoff zu neuer Verwendung als Wasserstoffakzeptor freigemacht. Die Hydroperoxydzersetzung ist ein typischer intermolekularer Dehydrierungsvorgang, bei dem Substrat und Wasserstoffakzeptor identisch sind. Da die spaltende Hydrierung des Wasserstoffperoxyds ein exothermer Vorgang ist, geht der mit geringerer Energie am Sauerstoff sitzende Wasserstoff des einen Moleküls an das andere Molekül.



Die Katalasen sind nichts anders als Dehydrasen, deren Wirkung ganz spezifisch auf Hydroperoxyd eingestellt ist. Da sie an den Oxydationsvorgängen in der Zelle selbst direkt nicht beteiligt sind, sondern nur durch die Atmung entstandenen Protoplasmagifte unschädlich machen, so kann man die Katalasen als Hilfsfermente der Atmung bezeichnen. Die eigentliche Atmungsenzyme sind auf das Hydroperoxyd nicht eingestellt, es kann ihnen nicht mehr als Wasserstoffakzeptor dienen. Sie nutzen den Sauerstoff nur bis zum halben Grade seiner Aufnahmefähigkeit aus. Durch die Tätigkeit der Katalasen wird für die Atmung neuer Sauerstoff freigemacht.

Da Hydroperoxyd nur bei der Sauerstoffatmung in der Zelle gebildet wird, so müssten theoretisch Anaerobier, die ein Leben

ohne Sauerstoff führen, frei von Katalase sein. Das ist in der Tat der Fall. Anaerobe Bakterien, wie Tetanus und Botulinus, und der Spulwurm, die auf ein Leben ohne Sauerstoff eingestellt sind, enthalten nur sehr wenig Katalase, während Aerobier sie in grosser Menge führen.

Mc. Leod und Gordon (71 haben ermittelt, dass anaerobe Pneumococcen, die keinen Katalasegehalt zeigten, bei Anwesenheit von Luft Wasserstoffperoxyd bilden.

Die Beobachtung, dass Blausäure die Sauerstoffatmung und die Katalasewirkung, wie Bredig (26) gezeigt hat, sehr stark schädigt, die sauerstofflose Atmung aber nur in geringem Masse, spricht dafür, dass die Dehydrasen der Atmung von der Blausäure in ihrer Wirkung nur wenig beeinträchtigt werden und dass der Ausfall der Hilfsfermente, der Katalasen, auf das Leben der Aerobier durch Anhäufung von Wasserstoffperoxyd tödlich wirkt. Die Blausaurevergiftung eines Organs ist demnach nichts anderes als eine Hydroperoxydvergiftung des Körpers durch Ausfall der Katalasefunktion Die Dehydrierungsvorgänge beim anaerob lebenden Spulwurm werden daher durch Blausäurekonzentrationen, die für den Aerobier schon längst deletär sind, nur wenig beeinflusst.

Durch Vergiftung der Katalase durch Cyanide ist es Wieland und Fischer (180) gelungen, bei der Oxydation von Hydrochinon, Brenzkatechin, Pyrogallol und Anthrahydrochinon durch das Enzympräparat des Pilzes Lactarius vallerius Wasserstoffperoxyd qualitativ und quantitativ zu bestimmen. Bei den meisten Reaktionen gelingt das nicht, weil Hydroperoxyd einmal durch Kontaktsubstanzen zerlegt wird, dann aber auch selbst als Wasserstoffakzeptor unter Uebergang in Wasser dienen kann. Die Hemmung der Oxydation durch Blausäure ist nur gering, während die Katalasewirkung aufgehoben ist. Das gebildete Wasserstoffperoxyd wies Wieland mit Titanschwefelsäure nach, quantitativ bestimmte er es mit Kaliumpermanganat. Die Oxydase ist sehr thermostabil. Durch Erhitzen auf 100° während 25 Minuten bleibt ihre Wirksamkeit unverändert.

Calciumglykolat plus Manganacetat zeigen gegen Hydrochinon dasselbe Verhalten wie die Oxydase. Auch hier konnte Wasserstoffperoxyd quantitativ gefunden werden.

Das Verhalten des Enzyms Katalase zu Blausäure ist besonders eingehend von Senter (125, 126) und Wieland (178) studiert worden. Die starke Hemmung der Katalase durch Blausäure wird

nach Wieland nicht durch Durchlüftung aufgehoben, sondern noch vermehrt. Er führt das darauf zurück, dass das Enzym bei der angewendeten starken Verdünnung schon allein durch die Schüttelung, die die durch die Flüssigkeit perlenden Gasblasen hervorrufen, inaktiviert wird. Auch indifferente Gase wie Stickstoff oder Kohlendioxyd hemmen die Katalase nach dem Durchleiten stark. Ferner stellte Wieland fest, dass die Giftwirkung geringer ist, wenn einer Enzymlösung Blausäure zugefügt und dann entweder vor oder nach der Inkubationszeit mit Wasser verdünnt wird. Hierdurch kam er zu der Annahme, dass die Blausäurevergiftung der Katalase auf Adsorption zurückzuführen ist. Entgegen Wielands Feststellung findet Senter, dass die Blausäure keine dauernde Veränderung des Enzyms verursacht, wie schon von Schönbein erwähnt wird. Das Ferment erlangt nach dem Durchlüften seine alte katalytische Kraft wieder. Der Vorgang ist also reversibel. Er zeigte weiter, dass die Blausäurewirkung von der Inkubationszeit abhängig ist. Fügt man Wasserstoffperoxyd und Blausäure gemischt zu einer Blutlösung, dann ist weniger Zeit für 50% Umsatz erforderlich, als wenn man Blausäure mit Blut mischt und erst nach einiger Zeit Wasserstoffperoxyd zugibt. Die Dauer der Inkubationszeit hat also einen Einfluss auf die Grössenordnung der Lähmung.

Wie oben auseinandergesetzt, überträgt das Atmungsferment Wasserstoff auf Sauerstoff als Akzeptor nur bis zur Bildung von Wasserstoffperoxyd, aus dem die Katalase neuen Sauerstoff in Freiheit setzt. Die im Pflanzenreich weit verbreiteten Peroxydasen, die die Oxydation von Phenolen durch Wasserstoffperoxyd beschleunigen, sind ebenso wie die Katalasen auf Hydroperoxyd eingestellt, auch auf anorganische und gewisse organische Peroxyde, wie Aethylhydroperoxyd. Auf die Zersetzung von Wasserstoffperoxyd haben sie keinen Einfluss. Die dehydrierende Wirkung der Peroxydasen gegenüber Phenolen verläuft nach dem Schema:

$$C_6H_4(OH)_2 + \begin{matrix} OH \\ | \\ OH \end{matrix} \xrightarrow{\text{Peroxydase}} C_6H_4(=O)_2 + \begin{matrix} H_2O \\ \\ H_2O \end{matrix}$$

5.) Der biologische Dehydrierungsmechanismus.

Die Wielandsche Theorie haben eine ganze Reihe von Forschern bes. Thunberg (136—141) zur Deutung von biologischen Oxydationserscheinungen herangezogen. Thunberg hat mit dem

von ihm konstruierten Mikrorespirometer, der zur Messung des Gasaustausches kleiner Organe und Organismen dient, die Sauerstoffaufnahme und Kohlendioxydabgabe der überlebenden Froschmuskulatur (131, 134) nach Zusatz von Neutralsalzen von organischen Säuren untersucht und gefunden, dass die Salze von Bernsteinsäure, Fumarsäure, Apfelsäure und Zitronensäure das Sauerstoffbedürfnis der Gewebe stark anregen. Battelli und Stern (17, 18, 21, 22) haben festgestellt, dass Bernsteinsäure durch isoliertes Tiergewebe mit Sauerstoff in Apfelsäure übergeführt wird und dass die Umsetzung durch Blausäure stark gehemmt wird. Den bei der Reaktion spezifisch wirkenden Fermenten haben sie den Namen „Oxydone" gegeben (22). Etwas später machte Einbeck (43) die Beobachtung, dass bei der Einwirkung von Muskelgewebe auf Bernsteinsäure bei Gegenwart von Luft Fumarsäure entsteht. Schon früher hatte er das Vorkommen von Fumarsäure (42) und Bernsteinsäure (41) in frischem Fleische nachgewiesen.

Das chemische Interesse der biologischen Oxydation der Bernsteinsäure zu Fumarsäure ist gross, wird doch die Bernsteinsäure selbst durch kräftige Oxydationsmittel wie Permanganat und Salpetersäure kaum angegriffen, während sie von tierischem Gewebe und vielen Mikroorganismen leicht abgebaut wird. Diese Reaktion bleibt unverständlich, wenn man sie durch die älteren Oxydationstheorien zu erklären sucht. Nach der Wielandschen Theorie ergibt sich die Deutung von selbst, ja die Reaktion kann überhaupt nicht anders verlaufen. Das Ferment, die Succinodehydrase, aktiviert zwei Wasserstoffatome der Bernsteinsäure, die dann von Sauerstoff als Akzeptor gebunden werden.

$$HOOC.CH_2.CH_2.COOH + {}^1/_2O_2 \text{ —» } HOOC.CH = CH.COOH + H_2O$$

Thunberg beobachtete später (138) in Uebereinstimmung mit Wielands Theorie, dass dieselben Oxydationsprodukte unter streng anaeroben Bedingungen auftreten, wenn Methylenblau als Wasserstoffakzeptor in dem System anwesend ist. Als ein grosser Mangel der Versuche muss bezeichnet werden, dass das theoretisch entstehende Produkt, die Fumarsäure, bei der Dehydierung mit Methylenblau bis jetzt noch nicht isoliert worden ist.

$$HOOC.CH_2.CH_2.COOH + \text{Methylenblau} \text{ —» } HOOC.CH=CH.COOH + \text{Leukomethylenblau.}$$

Auf Grund dieses Ergebnisses hat sich Thunberg Wielands Ansicht angeschlossen und seitdem die Theorie der Wasserstoff-

aktivierung stark gestützt und viel zu ihrem Beweise beigetragen. Das Ferment, das die Wasserstoffatome des Substratmoleküls mobilisiert, bezeichnet Thunberg als „Hydrogenotransportase". Das bei der Dehydrierung der Bernsteinsäure wirksame Enzym ist sehr spezifisch nnd hat den Charakter einer „Succinodehydrogenase." Die Tatsache, dass die durch Fermente reaktionsfähig gemachten Wasserstoffatome mit gleicher Leichtigkeit zu so verschiedenen Akzeptoren wie Sauerstoff und Methylenblau transportiert werden, von denen der Farbstoff sicherlich ohne Aktivierung arbeitet, spricht dafür, dass die Wirkung des Kontaktes mit dem Gewebe eher darin besteht, den Wasserstoff der oxydablen Substanz zu mobilisieren als den Sauerstoff zu aktivieren.

Thunberg stellte gleichfalls fest, dass Cyanide den anaeroben Wasserstofftransport von der Bernsteinsäure zu Methylenblau nicht beeinflussen, während sie die Oxydation der Bernsteinsäure mit molekularen Sauerstoff verhindern, was schon Batelli und Stern (17) zeigten. Nach Wieland's Theorie ist die Katalase, die bei der anaeroben Dehydrierung überhaupt nicht in Tätigkeit tritt, der Angriffspunkt der Blausäure. Die Oxydation hört durch Anhäufung des für die Zelle giftigen Wasserstoffperoxydes auf. Nach Thunberg kann nur aktivierter Sauerstoff, der in minimaler Konzentration hypothetisch in der Luft vorkommt (Mecke 85), bei der Atmung als Wasserstoffakzeptor dienen. Die Cyansensibilität der Sauerstoffatmung beruht nach Thunbergs Ansicht auf einer „Vergiftung" des aktivierten Sauerstoffs. Molekularer Sauerstoff kann nach ihm nicht durch aktivierten Wasserstoff zu Wasser hydiert werden. Da der spontanaktivierte Teil des gewöhnlichen Sauerstoff nur einen Bruchteil des gewöhnlichen Sauerstoffs ausmacht, so ist äusserst wenig Blausäure zur Vergiftung ausreichend. Abderhalden und Wertheimer (1, 2,) schliessen sich Thunbergs Auffassung an.

Später hat Thunberg (139) mit Hilfe der von ihm angegebenen Vakuumröhrchen unter Verwendung von Methylenblau als Wasserstoffakzeptor eine ganze Reihe von Enzymen gefunden, welche auf viele organische Säuren und Aminosäuren bei Gegenwart von zerschnittener und gewaschener Froschmuskulatur dehydrierend wirken. Ausser der schon früher bekannten Bernsteinsäure und Milchsäure sind bes. Fumarsäure, Oxybuttersäure, Apfelsäure, l-Weinsäure, Mesoweinsäure, 1-α-Oxyglutarsäure, Zitronensäure und Glutaminsäure Wasserstoffdonatoren, während die r-Weinsäure

kein Entfärbungsvermögen besitzt. Da also festgestellt ist, dass die Methylenblaureduktion mehrere der für die Zellatmung charakteristischen Oxydationsprozesse widerspiegelt, liegt es nahe anzunehmen, dass dies mit allen der Fall ist. Bis jetzt sprechen auch keine experimentellen Ergebnisse dagegen. Diese unbewiesene Annahme wird durch die Tatsache unterstützt, dass, wie die Untersuchungen von Meyerhof gezeigt haben, die durch Gegenwart von Methylenblau angeregte Atmung denselben respiratorischen Quotienten (90) aufweist wie die Atmung mit Sauerstoff. Ferner ist die Feststellung von Lipschitz und Meyer (79) bemerkenswert, dass bei der Reduktion von Methylenblau durch Muskelgewebe äquivalente Mengen Kohlensäure gebildet werden, wie Farbstoff reduziert wird. Die sauerstofflose „Methylenblauatmung" der Muskulatur hat daher einen Dehydrierungsquotienten von ca. 1, also dem normalen respiratorischen Quotienten des Muskels entsprechend. Als Dehydrierungsquotient bezeichnet Winterstein (190) das molekulare Verhältnis der abgegebenen Kohlensäure zum aktivierten Wasserstoff.

Der Abbau der Kohlenstoffkette ist nur durch Dehydrierung allein möglich, wenn Wasserstoffatome im System vorhanden sind, die durch die Dehydrasen mobilisiert werden können. Während die Buttersäure die Reduktion von Methylenblau veranlasst, hat sich ein solches Aktivierungsvermögen für Isobuttersäure $(CH_3)_2CH$, COOH nicht nachweisen lassen.

Wie die Methylenblaumethode zeigt, ist die Fumarsäure ein äusserst kräftiger Aktivator. Sie enthält als ungesättigte Säure noch zwei Wasserstoffatome, die aktiviert werden könnten. Aus Fumarsäure müsste also eine dreifach ungesättigte Säure, die Acethylendikarbonsäure, entstehen. Damit wäre die Dehydrierungsmöglichkeit erschöpft.

$$HOOC.CH{=}CH.COOH \quad -2H \longrightarrow HOOC.C{\equiv}C.COOH$$

Der Abbau dieser Säure erfolgt jedoch nicht über diese Säure. Die Untersuchungen von Einbeck (43), Batteli und Stern (21) haben gezeigt, sowie die von Friedmann und Maase (53), dass ungesättigte Säuren unter Wasseranlagerung im Organismus in Oxysäuren übergeführt werden, wie z. B. die Fumarsäure in Äpfelsäure und die Crotonsäure in Oxybuttersäure.

$$HOOC.CH{=}CH.COOH + HOH \longrightarrow HOOC.CH(OH).CH_2.COOH$$
$$CH_3.CH{=}CH.COOH + HOH \longrightarrow CH_3.CH(OH).CH_3.COOH$$

Die wasseraddierenden Fermente werden als Hydratasen bezeichnet und wirken wie die Dehydrogenasen spezifisch. In der Zelle werden so durch ihre Tätigkeit neue Verbindungen gebildet, die, da sie aktivierungsfähige Wasserstoffatome besitzen, durch erneute Dehydrierung im Zellgewebe abgebaut werden können.

Die einfachen Nährstoffe passieren, worauf schon Schönbein hinwies, eine ganze Reihe von Zwischenstufen, ehe sie zu den Endprodukten der Verbrennung abgebaut werden. Dehydrierungs- und Hydratisierungsvorgänge in Verbindung mit Kohlesäureabspaltungen neben hydrolytischen Spaltungen und intermolekularen Umlagerungen wechseln einander in bunter Folge ab, um das Endstadium des Abbaues der Nährstoffe zu erreichen.

„Der Wasserstoff ist also", wie Thunberg sich ausdrückt, „als das elementare, gemeinsame Brennmaterial der Zellen zu betrachten". Die Wirkung der Nährstoffe als solche beruht auf ihrem potentiellen Wasserstoffgehalt. Der Energiegehalt des Kohlenstoffs tritt erst sekundär durch Wasseraddition und nachfolgender Abspaltung des Wasserstoffs infolge Bindung durch Sauerstoff als Akzeptor zutage.

Nach dieser Hypothese wird der von den Lungen aufgenommene Sauerstoff nicht mit der ausgeatmeten Kohlensäure beim Verbrennungsvorgang ausgeschieden, sondern in Wasser umgewandelt. Der Sauerstoff der ausgeatmeten Kohlensäure stammt zum Teil aus den Molekülen der Nährstoffe, indem er in seiner Bindung mit dem Kohlenstoff übrigbleibt, dadurch dass der Wasserstoff aus der Kohlenstoffkette durch aufgenommenen Sauerstoff gebunden wird, teils aber auch rührt er von den durch die hydratisierenden Fermente angelagerten Wassermolekülen her, die besonders an Doppelbindungen und Aldehydgruppen addiert werden.

6.) Thermochemie der Hydrierungs- und Dehydrierungsvorgänge.

Das Zustandekommen einer chemischen Verbindung oder deren Zersetzung ist mit einer Wärmeentwicklung oder -absorption, mit einem kalorischen Effekt, auch Wärmetönung genannt, verbunden. Der lebende Organismus erhält aus exothermischen Oxydationspro

prozessen andauernd die Energiemenge, die er zur Bestreitung seiner Ausgaben an Wärme und motorischer Energie und zur Aufrechterhaltung des gesamten Stoffwechsels benötigt.

Die Phänomene des Wasserstofftransportes = Oxydationsvorgänge werden von den Gesetzen der Thermodynamik beherrscht. In einem System, das nur einen Donator und einen Akzeptor enthält, kann der Wasserstoff nur dann transportiert werden, wenn die durch die Dehydrierung gelieferte Energie mindestens der Arbeit gleich ist, die für die Hydrierung erforderlich ist.

Grosse Bedeutung für das Studium der biologischen Oxydationserscheinungen hat die Bestimmung der Reduktions-Oxydationspotentiale (Thunberg (140) verwendet hiefür die Bezeichnung Redox-P) der verschiedenen miteinander reagierenden Stoffe erlangt. Mansfield Clark und Mitarbeiter (30, 31) haben die Methode zur Bestimmung dieser Verhältnisse sehr vereinfacht. Sie haben die Reduktions-Oxydationspotentiale von einer Reihe von reduzierenden Farbstoffen der Indophenol- und Indigogruppe genau auf elektrochemischem Wege bestimmt. Diese Farbstoffe in Serien geordnet, werden dazu benutzt, die Reduktionskraft einer Lösung oder eines Systems kolorimetrisch zu bestimmen. Ob eine Uebertragung von Wasserstoff erfolgen kann oder nicht, hängt ganz von den Reduktions-Oxydationspotentialen ab. Clark hat das Symbol r_H für das Redox-P eingeführt und definiert es als den negativen Logarithmus des in Atmosphären gemessenen Wasserstoffdruckes im Gleichgewicht mit dem fraglichen Redoxsystem. So hat eine Lösung von hoher reduzierender Kraft einen kleinen r_H-Wert und umgekehrt. Mit anderen Worten ist eine Substanz mit niedrigem r_H schwerer zu reduzieren als eine solche mit hohem r_H.

Das Redoxpotential des Sauerstoffs ist grösser als des Methylenblaus. Bei einer P_H 6,7 entsprechenden r_H beträgt ersteres 0,828 Volt, letzteres 0,007 Volt. Ein System, dessen Redox-P zwischen diesen beiden Werten liegt, vermag Methylenblau nicht zu reduzieren, während es von Sauerstoff oxydiert werden kann.

Ein interessantes Gleichgewicht stellt sich bei der anaeroben „Oxydation“ von Fumarsäure durch Methylenblau unter der Einwirkung einer Aufschlämmung von Muskelgewebe ein. (Thunberg 138, 140, Battelli und Stern 22). Im Gegensatz zu der überwie-

genden Anzahl Aktivatoren tritt niemals vollständige Entfärbung der zugesetzten Menge Methylenblau ein. Als Ursache dafür, dass die Reaktion bei Fumarsäure als Aktivator auf halbem Wege stehen bleibt, wurde zunächst die Entstehung eines giftigen Reaktionsproduktes bei der Dehydrierung der Fumarsäure angesehen. Aber auch bei einer geringen Methylenblaukonzentration ist eine völlige Entfärbung nicht zu erreichen. Wird Leukomethylenblau zu Fumarsäure bei Gegenwart von Gewebsmasse gesetzt, tritt Blaufärbung ein. Dies beruht darauf, dass das Redoxpotential der Fumarsäure grösser ist als des Leukomethylenblaus. Es ist gleich dem Redoxpotential einer Mischung von Methylenblau und Leukomethylenblau in solchen Proportionen, wie sie beim Eintritt des oben genannten Stillstandes im Entfärbungsprozess vorhanden ist. Das Gleichgewicht ist nach dem Massenwirkungsgesetz charakterisiert durch die Gleichgewichtskonstante $K = \frac{\text{Verbindung} \times \text{Wasserstoff.}}{\text{Leukoverbindung}}$.

Die Fumarsäure übernimmt vom Leukomethylenblau Wasserstoff, wodurch sich Bernsteinsäure und Methylenblau bilden.

Fumarsäure + Methylenblau $\rightleftharpoons$ Bernsteinsäure + Leukomethylenblau.

Dieses Gleichgewicht haben Quastel und Whetham (108) auch für Bakterien festgestellt und es als erste von quantitativem Standpunkt aus studiert. Streng quantitativ hat Thunberg (140) dieses Gleichgewicht durch Bestimmung der Redoxpotentiale bearbeitet.

Die Methylenblaumethode gibt wegen des niederen Redoxpotentials nur über die Systeme Aufschluss, die eine geringere Wasserstoffinität besitzen und die in solchen Mengen vorkommen, dass sie den Entfärbungsgrad genügend beeinflussen. Trotzdem ist das Methylenblau wegen seiner verhältnismässig günstigen Hydrogenaffinität ein sehr wertvoller Oxydoreduktionsindikator. Ein Farbstoff würde als Oxydationsindikator erst dann allen Anforderungen Genüge leisten, wenn sein Rodoxpotential gleich dem des Sauerstoffs ist und wenn auch seine übrigen Eigenschaften, wie starkes Färbevermögen und Ungiftigkeit für das Gewebe ihn für seine Bestimmung geeignet machen.

7.) Wasserstoffakzeptoren.

Als Wasserstoffakzeptor können neben Methylenblau und Chinon eine ganze Reihe von Stoffen dienen.

Bach (12) hat bei der Schardingerschen Reaktion anstelle von Methylenblau Nitrat benutzt, das unter Aufnahme von 2 Wasserstoffatomen zu Nitrit reduziert wird.

Lipschitz (73—79) verwendet zum Studium der Gewebsatmung m-Dinitrobenzol, das nach seiner Annahme im Prinzip in 2 wichtigen Punkten der Methylenblaumethode überlegen ist. Einmal ist der Wasserstoffakzeptor stets im Ueberschuss vorhanden, und ferner ist das Reduktionsprodukt bei den Dinitrobenzolversuchen irreversibel. Das Reaktionsprodukt, gelbes m-Nitrophenylhydroxylamin, wird kolorimetrisch bestimmt. Die Annahme von Lipschitz hat sich jedoch als irrig erwiesen, indem er selbst in einer seiner letzten Arbeit zeigt, dass die Gelbfärbung in seinen Versuchen nicht als eine Reduktion von m-Dinitrobenzol, sondern auf Reduktion von o-Dinitrobenzol zurückzuführen ist, das in geringer Menge als Verunreinigung anwesend ist. Da der Reaktionsverlauf völlig unklar ist, so ist die „Nitromethode" als quantitative Messmethode nicht zu verwerten.

Auch Nitroanthrachinon ist, da es kein stabiles Endprodukt (Aminoantrachinon) liefert, für quantitative Bestimmungen nicht zu gebrauchen.

Als geeignet hat sich dagegen bei der Dehydrierung der Bernsteinsäure Dithioglykolsäure (Wieland 177) erwiesen, das durch Hydrierung in Thioglykolsäure übergeht.

$$HOOC.\ CH_2.\ S\text{-}S.\ CH_2.\ COOH \longrightarrow 2\ HS.\ CH_2.\ COOH$$

Die gebildete Thioglykolsäure kann direkt mit Jod in Stickstoffatmosphäre titriert werden. Die hypothetisch entstehende Fumarsäure wurde aber auch hier nicht isoliert.

8.) Intermediärer Wasserstofftransport.

Einige Tatsachen sprechen dafür, dass in gewissen Fällen von Oxydationsvorgängen der Wasserstoff nicht direkt von den primären Donatoren zum Sauerstoff, sondern in Etappen transportiert wird. Die Geschwindikeit des Wasserstofftransportes scheint durch Vermittlung einer Substanz anzuwachsen, die abwechselnd die Rolle als Akzeptor und Donator übernimmt. Ein solcher Stoff dient daher als katalytischer Wasserstoffträger.

a.) Das Phenol-Chinon-System.

Die reversible Beziehung zwischen Polyphenolmolekülen und chinoiden Molekülen scheint für die Pflanze von grosser Bedeutung zu sein.

Historisch haben die Polyphenole einen wichtigen Platz beim Studium der Gewebsoxydation eingenommen. Durch die neueren Untersuchungen haben die Anschauungen von Bach und Chodat über die Bildung eines organischen Peroxydes (Englers Moloxyd) als erste Stufe der Aktivierung des Sauerstoffmoleküls an Gültigkeit verloren.

Mrs. Onslow (103) hat gezeigt, dass von den höheren Pflanzen alle diejenigen, die komplette Oxydasesysteme enthalten, ein funktionelles Katechol (Brenzkatechin-) -derivat besitzen.

Einen interessanten Beitrag zum Studium der Guajakreaktion hat Szent-Györgyi (130) geliefert, dessen Resultate im Wesentlichen von Mrs. Onslow und Miss Robinson (104) bestätigt worden sind. Er ließ ein Enzympräparat aus der Kartoffel eine Zeitlang in einer Lösung von Katechol reagieren. Durch Niederschlagung der Fermente mit Alkohol — vollständig lassen sie sich nach Onslow und Robinson durch kolloidales Ferrihydroxyd oder Pikrinsäure (104) entfernen — erhielt er ein enzymfreies Filtrat, das Guajakol in typischer Weise in Abwesenheit von Peroxydase bläute. Orthochinon, das durch Oxydation von Katechol mit Silberoxyd nach der Willstätterschen Methode (183) erhalten wird, zeigt das gleiche Verhalten Guajakol gegenüber wie das durch die Tätikeit der Peroxydase aus Katechol entstehende Produkt.

Die Produktion von Wasserstoffperoxyd während der Dehydrierung der Diphenole hat Wieland (151) bewiesen.

Der wesentliche Faktor bei der Oxydation der Indikatoren der Phenolasetätigkeit z. B. Guajakol ist so selbst ein Phenol. Allem Anscheine nach ist das wirksame Enzym, das mit dem Phenolasesystem kombiniert ist, eine Dehydrase in Wielands Sinne und auf Orthodiphenole spezifisch eingestellt.

Durch die Tätikeit der Phenoldehydrase entsteht ein Chinon. Die Peroxydase macht das als erstes Hydrierungsprodukt des Sauerstoffs entstandene Wasserstoffperoxyd nutzbar, so dass ein Polyphenolmolekül zum Chinon dehydriert wird.

$$C_6H_4(OH)_2 + \begin{matrix}O\\ \|\\ O\end{matrix} \xrightarrow{\text{Phenoldehydrase}} C_6H_4(=O)_2 + \begin{matrix}HO\\ |\\ HO\end{matrix}$$

$$C_6H_4(OH_2 + \begin{matrix}HO\\ |\\ HO\end{matrix} \xrightarrow{\text{Peroxydase}} C_6H_4(=O)_2 + \begin{matrix}H_2O\\ \\ H_2O\end{matrix}$$

Das entstandene Chinon und nicht etwa ein organisches Peroxyd oxydiert den oben erwähnten Indikator. Ist eine Peroxydase im System anwesend, so ist auch das Wasserstoffperoxyd an der Bläuung von Guajakol beteiligt.

Das bei Dehydrierung eines Polyphenols gebildete Chinon ist wiederum ein wirksamer Wasserstoffakzeptor und wird durch andere Substanzen in der Pflanze zu Polyphenolen reduziert, das wiederum von neuem oxydiert wird. Auf diese Weise kommt eine Kette von intermediärem Wasserstofftransport zustande.

b.) **Das Thiol-Disulfid-System.**

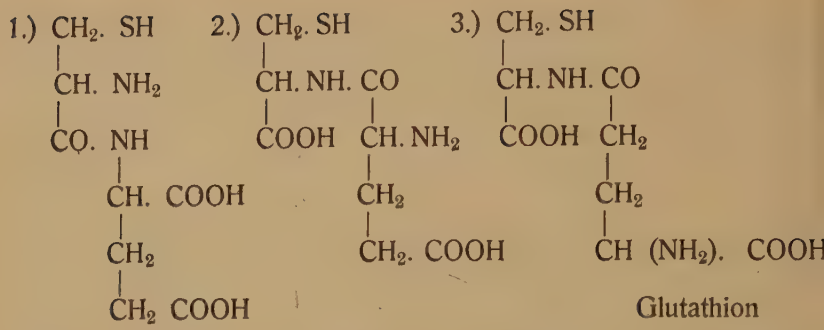
Während das reversible Phenol-Chinonsystem wahrscheinlich nur in der Pflanzenzelle eine wichtige Rolle spielt, scheint die Sulfhydrylgruppe vor allem in der Tierzelle ganz allgemein am Vorgang des intermediären Wasserstofftransportes bei biologischen Oxydationen beteiligt zu sein.

Als erster schrieb Heffter (64, 65) der Sulfhydrylgruppe grosse Bedeutung für Reduktionsprozesse in der lebenden Zelle zu. Dass die Erscheinungen durch Reduktionsfermente bewirkt werden, leugnet er vollkommen. Nach ihm sind sie das Werk des Wasserstoffs der labilen SH-Gruppe. Er hat gezeigt, dass das in der Zelle vorkommende Cystein andere Substanzen reduziert. So setzt sich das Cystein mit Schwefel zu Cystin und Schwefelwasserstoff um.

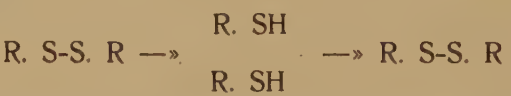
$$HOOC.\ CH\ (NH_2).\ CH_2.\ S\boxed{\begin{matrix}H & H\\ & S\end{matrix}}S.\ CH_2.\ CH(NH_2).\ COOH \longrightarrow$$

$$HOOC.\ CH\ (NH_2).\ CH_2.\ S.\ S.\ CH_2.\ CH\ (NH_2).\ COOH + H_2S$$

Ein wirklicher Zellbestandteil dieser Art ist das von Hopkins 1921 (67) in Hefe, Säugetierleber und Muskel entdeckte und isolierte Glutathion. Nach den Untersuchungen von Quastel, Stewart und Tunnicliffe (107) ist es ein leicht lösliches Dipeptid, das aus Cystein und Glutaminsäure zusammengesetzt ist. Von den drei theoretisch möglichen Formeln:



kommt nach ihnen die Struktur des Glutathion durch Formel 3 zum Ausdruck. Stewart und Tunnicliffe (127 haben es seitdem synthetisch dargestellt. Gleich den meisten Sulfhydrylverbindungen liefert es bei der Oxydation ein Disulfid. Die Disulfidform des Glutathions kann dann als intermediärer Akzeptor für Wasserstoff dienen, der durch die Tätigkeit der Dehydrasen in den Donatorsubstanzen reaktionsfähig gemacht ist. Die hierdurch entstehende reduzierte Form des Glutathions überträgt dann seinen labilen SH-Wasserstoff an den Wasserstoffakzeptor, bei biologischen Oxydationen an Sauerstoff, bei den Methylenblauversuchen an den Farbstoff.



Anfänglich wurde angenommen, dass das Cystein autoxydabel ist. Warburg und Sakuma (117, 119) haben jedoch bewiesen, dass freies Cystein zu seiner Oxydation Spuren von Eisen benötigt, was nach Warburgs Ansicht eine Stütze seiner Atmungstheorie ist. Harrison (62) hat gezeigt, dass auch die Oxydation des Glutathions auf Eisenkatalyse beruht. Das Glutaminsäurecysteindipeptid ist in exzidiertem Gewebe in reichem Masse durch molekularen Sauerstoff oxydierbar, also auch sicherlich in der lebenden Zelle, in der immer genügend Eisen vorhanden ist. Die biologische Bedeutung des Glutathions und der SH-Gruppen für die biologischen Oxydationen ist deshalb noch ziemlich dunkel (91), weil die einmal gebildete oxydierte Form rasch durch andere Gewebsbestandteile reduziert wird.

Die Sulfhydryl- und Disulfidgruppen, wie sie abwechselnd im Dipeptidmolekül entstehen, werden also im Gewebe leicht oxy

diert und reduziert. Sie unterscheiden sich insofern vom Chinon-Phenol-System dadurch, dass sie kein stabiles Gleichgewicht elektrometrisch an der Elektrode bilden. Nach den Untersuchungen von Dixon und Quastel (37) gibt die Sulfhydrylform des Glutathions mit steigender Konzentration ein steigendes Redoxpotential, das schliesslich durch die Tatsache begrenzt wird, dass Wasserstoff von der Elektrode wegdiffundiert (38). Die Disulfidform wirkt nicht auf die Elektrode ein. Das Thiol-Disulfid-System ist somit von elektrochemischem Standpunkt aus irreversibel.

In saurer Lösung ist die SH-Gruppe selbst in Gegenwart von Eisen gegen Sauerstoff beständig, in neutraler oder schwach alkalischer Lösung wird sie dagegen dauernd oxydiert und durch verfügbaren Wasserstoff im Gewebe reduziert. Das Verhältnis beider Formen stellt sich nach den relativen Geschwindigkeiten der Oxydations- und Reduktionsprozesse ein.

II.) Warburgs Sauerstoffaktivierungs-Theorie.

1.) Prinzip.

Nach der Warburgschen Theorie der Zellatmung (150—166) sind es zwei Mittel, die notwendig sind, um biochemische Oxydationserscheinungen auszulösen: die Aktivierung des molekularen Sauerstoffs durch Eisen und die Adsorption. Nach seiner Ansicht ist die Zellatmung ein kapillarmechanischer Vorgang, der sich an den eisenhaltigen Oberflächen der festen Zellbestandteile abspielt. Fehlt diese besondere Aktivierung des Sauerstoffs durch Eisen, so reagiert der Sauerstoff in keiner Weise mit den organischen Molekülen in der lebenden Zelle. Das Substrat selbst ist nicht besonders aktiviert. Da aber die Respiration an den Oberflächen abläuft, mag die oxydable Substanz durch unspezifische Oberflächenkräfte in ihrem Gefüge gelockert werden, die die Stabilität des zu oxydierenden Materials verringern. Nach Warburg herrscht also ein Wechselspiel zwischen unspezifischen Oberflächenkräften und einem System, das sich mit dem Sauerstoff allein befasst, das, wie weiter unten gezeigt wird, in einem gewissen Grade spezifisch ist.

2.) Modellversuche.

Warburgs Standpunkt stützt sich auf eine ganze Reihe von Untersuchungen. Er hat hoch quantitative Experimente beschrieben,

die die Wichtigkeit der Oberflächen bei der Zellatmung demonstrieren sollen. Bei einem Versuch (159) hat er die Respiration von roten Vogelblutkörperchen in vitro untersucht. Bringt man die Blutkörperchen in eine Kältemischung von — 80°, so werden beim Gefrieren die feinen, die Strukturteile umhüllenden Membranen zerrissen. Beim Auftauen entsteht eine Flüssigkeit, in der die festen Zellbestandteile suspendiert sind. Nach dem Zentrifugieren erhält man zwei Schichten: eine klare, nicht atmende obere Schicht und eine trübe, tiefere atmende Schicht, die die festen Zellbestandteile enthält.

Zentrifugiert man ungefurchte Seeigeleier und schüttelt, so erhält man, indem die Eier ausfliessen, eine Flüssigkeit (150, 151, 153, 154), die in gleichem Masse weiteratmet wie die intakten Eier, aus denen sie gewonnen wurde. Nach Warburgs Anschauung steht im ungefurchten Ei die Atmung noch nicht in Beziehung zur Zellstruktur, sondern beruht auf einer Oxydation von Lipoiden unter dem Einfluss von Eisensalzen (151). In der Flüssigkeit ist eine minimale Menge Eisen enthalten. Fügt man ihr Eisen in Mengen zu, wie sie sich in der Eisubstanz finden, so nimmt der Sauerstoffverbrauch in einem Masse zu, der dem Eisengehalt der Zellsubstanz direkt proportional ist. Verdoppelung des Eisengehaltes bewirkt eine Atmungssteigerung auf den doppelten Betrag.

Besonders eingehend hat Warburg die Oxydation von Aminosäuren (158, 159) wie z. B. des Cystins, Leucins und Tyrosins mit molekularem Sauerstoff und Mercks Tierblutkohle studiert. Durch Schütteln der wässerigen Lösung mit Kohle bei Zimmertemperatur werden die Aminosäuren unter Sauerstoffaufnahme, wenn auch nicht vollständig, abgebaut. Die Endprodukte der Eiweissverbrennung erwiesen sich als dieselben wie bei der Umsetzung im lebenden Organismus, nämlich Kohlensäure, Wasser, Ammoniak und Schwefelsäure. Diese Reaktion ist jedoch niemals vollständig. Bei der Oxydation von Leucin an Blutkohle ist Valeraldehyd bald nach dem Mischen der Lösung am Geruch zu erkennen.

Aehnliche Versuche, Zucker, Fettsäuren: Milchsäure und Apfelsäure zu oxydieren, fielen negativ aus. Dagegen wurde eine wässerige Oxalsäurelösung bei Zimmertemperatur schnell zu Kohlendioxyd und Wasser verbrannt.

3.) Wirkung von Narkoticis. (159)

Es ist eine bekannte Tatsache, dass feste Körper wie Quarz, Porzellan, Kohle und andere feste Körper infolge Oberflächenkräften Gasreaktionen, wie die Knallgasreaktion katalytisch beschleunigen können. Die Gase sollen sich nach einer schon von Faraday geäusserten Ansicht an der Oberfläche der festen Körper verdichten und so reaktionsfähiger werden. Aber auch in Flüssigkeiten gelöste Stoffe werden durch Adsorption an feste Körper aktiviert. Fügt man z. B. zu einer Lösung von Cystin im Kohlemodell noch einen zweiten Stoff hinzu, so werden beide um den Adsorptionsraum an der Kohle konkurrieren. Die Verbrennung wird in dem Masse gehemmt werden, wie der zugeführte Stoff das Cystin verdrängt. Warburg hat dieses Verhalten experimentell bewiesen. Narkotika wie Urethane, Ketone und Nitrile, die an der Kohleoberfläche selbst nicht verändert werden, vermindern die Oxydationsgeschwindigkeit, indem sie die wirksame Oberfläche bedecken und dadurch die oxydable Substanz verdrängen. Die erzielte Oxydationshemmung ist genau der Oberflächenadsorptionskonstanten der hindernden Substanz proportional.

4.) Blausäurewirkung. (159)

Die kolossale Hemmung durch Cyanide ist weit grösser, als der Oberfläche entspricht. Als Erklärung der Blausäurewirkung stellt sich Warburg vor, dass an der Kohleoberfläche schwermetallhaltige aktive und schwermetallfreie Bezirke, die gegenüber den metallhaltigen bei weitem überwiegen, abwechseln. Das Eisen liegt in einer unbekannten, stickstoffhaltigen Bindung vor. Die Oxydation spielt sich in der Hauptsache an den Eisenregionen ab. Da die Blausäure infolge ihrer Affinität zu Schwermetallen vorwiegend die metallhaltigen Bezirke mit Beschlag belegt, und diese im Verhältnis zu den metallfreien sehr gering sind, so ist es nach Warburg leicht erklärlich, dass nur minimale Mengen Blausäure nötig sind, um die Kohle zu inaktivieren. Eisen und Blausäure gehen nach ihm nicht eine chemische komplexe Verbindung ein, sondern die Blausäure wird vom Eisen adsorbiert. Die Blausäure wirkt durch elektive Verdrängung der oxydablen Substanz von den Oxydationsorten, während die Narkotica, die alle Bezirke der Kohleoberfläche gleichmässig bedecken, die unspezifische Oberflächenkatalyse,

die das Substratmolekül aktiviert, hemmt. Die Blausäure vergiftet also den Mechanismus für die Sauerstoffaktivierung (Eisenkatalyse), der nach Warburg bei den biologischen Oxydationen eine so grosse Rolle spielt. Fleisch (51) und Szent-Györgyi (128) schliessen sich Warburgs Auffassung an.

Wie Warburg hervorhebt, ist die Blausäure ein kräftiges Gift bei allen denen Reaktionen, bei denen Sauerstoff gebunden oder übertragen wird, wie bei der Kohlensäureassimilation (155), der Nitratassimilation (156), der Wasserstoffperoxydspaltung (157) und der Atmung, also ein spezifischer Vergifter aller Katalysatoren zu Oxydationsprozessen.

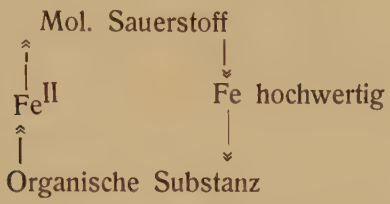
In welcher Weise sich die Blausäure mit dem Eisen verbindet, ist nicht geklärt. Nur soviel steht fest, dass die komplexen Verbindungen Ferro- und Ferricyanwasserstoffsäure in der Zelle nicht auftreten, da die Blausäurevergiftung der lebenden Zellsubstanz, wie schon Senter (125) zeigte, nach Durchlüftung einer Mischung von Enzym und Blausäure reversibel ist. Warburg hat dasselbe Verhalten im Reagensglasversuch bewiesen. Lässt man Jodsäure und Oxalsäure in wässeriger Lösung bei Zimmertemperatur miteinander reagieren, so tritt sehr schnell Zersetzung unter Bildung von Kohlendioxyd und Jod ein. Bei sehr reinen Präparaten geht der Zerfall nur langsam vor sich. Die Reaktion kommt durch minimale Mengen von Blausäure zum Stillstand, indem das als Katalysator wirkende Schwermetall, das als Verunreinigung in der Lösung vorhanden ist, durch die Blausäure gebunden wird. Leitet man durch die Lösung einen blausäurefreien Luftstrom, so kommt die Reaktion bald wieder in Gang. Die Bindung zwischen Eisen und Blausäure ist daher wahrscheinlich eine losere adsorptive Verbindung.

Nach Warburgs Ansicht ist die zur Vergiftung eines Präparates nötige Blausäuremenge der Eisenmenge direkt proportional. Ferner müssen alle Reaktionen, die durch Blausäure vergiftet worden sind, auch durch Eisenverbindungen katalysiert werden, indem sich das Eisen mit der überschüssigen Blausäure verbindet, die hierdurch unschädlich gemacht wird.

5.) Mechanismus der Eisenkatalysen.

Der Mechanismus der Eisenkatalysen (161, 165, 166) ist verschieden, aber im Prinzip immer gleich. Die niedere Oxydationsstufe des Eisens nimmt molekularen Sauerstoff auf und

geht hierbei in die höhere Oxydationsstufe über, die dann mit der oxydablen Substanz reagiert. Die niedere Oxydationsstufe wird so durch den organischen Stoff zurückgebildet, und der Kreislauf beginnt von neuem.



Der Sauerstoff kann sich mit der organischen Substanz direkt nicht verbinden, sondern nur auf dem Wege über die Eisenverbindung. Die katalytische Wirkung setzt nach Warburg weiter voraus, dass sich das Eisen in einer speziellen Form befindet. Ob und wie der Valenzwechsel vor sich geht, ist von der Bindung des Eisens abhängig.

Nicht alles zweiwertige Eisen reagiert mit molekularem Sauerstoff, und nicht jede Form dreiwertigen Eisens greift organische Substanz an. Freie Ferroionen werden durch molekularen Sauerstoff praktisch nicht verändert, können daher den molekularen Sauerstoff auch nicht übertragen. Selbst gewisse komplexe Eisenverbindungen wie Ferropyrophosphat, Citrat und festes Ferrohydroxyd, die leicht Sauerstoff aufnehmen, übertragen den Sauerstoff nicht auf Aminosäuren oder Zucker. Blutkohle baut nur Aminosäuren ab, nicht dagegen Kohlehydrate und Fette. Die Oxydation des Leucins wird durch Zuckerkohle, die aus reinem eisenfreien Rohrzucker hergestellt ist, beschleunigt und beruht nach Warburg auf der Wirkung eines Kohlenstoffperoxydes, das bei der Autoxydation der Zuckerkohle entsteht. Bei dieser Reaktion tritt Wasserstoffperoxyd als Nebenprodukt auf, was bei Anwendung von Blutkohle nicht der Fall ist. Auch wird die Zuckerkohle durch Blausäure nicht spezifisch vergiftet. Durch Glühen mit Silikat wird sie inaktiviert. Glühen der Silikatkohle mit Eisensalz macht sie nicht aktiv, jedoch tritt Aktivierung ein, wenn Haemin anstelle von Eisensalz genommen wird. Blutkohle wirkt demnach katalytisch durch ihren Gehalt an Eisen, das an Stickstoff gebunden ist.

Wie oben erwähnt, sind nach der Warburgschen Theorie alle biologischen Oxydationsvorgänge Eisenkatalysen. Die Hae-

minkohle wirkt spezifisch nur auf Aminosäuren, während Kohlehydrate und Fette mit dem Eisen nicht direkt, sondern in Form von bis jetzt unbekannten Derivaten mit dem Eisen reagieren. Hierher gehören die Spaltungs- und Kondensationsprodukte der Kohlehydrate und Fette, die, obgleich keine Oxydationsvorgänge, die Einwirkung des Eisens erst zulassen. Ein derartiger Fall liegt bei der Oxydation der Fruktose in neutraler Natriumphosphatlösung vor (163). Durch die spezifische Reaktion zwischen Fruktose und Phosphat entsteht ein reaktionsfähiger Körper, aber nicht die Hexosephosphorsäure, die gegen Sauerstoff widerstandsfähig ist. Meyerhof [92] hat bewiesen, dass die Autoxydation durch Schwermetalle bedingt ist, die durch Natriumpyrophosphat und Blausäure äusserst stark gehemmt wird, indem sie sich mit den Metallen zu komplexen Verbindungen vereinigen. Geringe Mengen von Kupfer, Mangan oder Eisen beschleunigen die Oxydation der Fruktose. Das Phosphat lässt sich vollständig durch Arseniat ersetzen. Nach den Untersuchungen von Wind [189] werden auch Sorbose, Dioxyaceton und Glycerinaldehyd von Natriumphosphatlösung sehr schnell abgebaut. Auch diese Reaktionen werden durch kleine Blausäurekonzentrationen gehemmt und durch kleine Mengen Schwermetall beschleunigt. Diese Oxydation in Natriumphosphatlösung ist nicht wie im Organismus vollständig, liefert aber doch in nicht unerheblicher Menge die biologischen Endprodukte der Kohlehydratverbrennung.

Ueber den Abbau der Fettsäuren durch Eisenkatalyse im Reagensglasversuch ist nur sehr wenig bekannt. Es scheint hierbei die in der Zelle vorkommende Bindung des Eisens an die Sulfhydrylgruppe eine Rolle zu spielen. Thunberg (132) zeigte, dass Eisensalze die Oxydation wässeriger Lecithinsuspensionen durch molekularen Sauerstoff katalysieren. Warburg selbst fand, dass Eisensalze in gleicher Weise auf Linolensäure einwirken und dass die Einwirkung aufhört, wenn von den 3 Doppelbindungen der Linolensäure 2 in einfache Bindungen übergegangen sind. Meyerhof wiederum entdeckte, dass bei der Oxydation von Leinöl das Eisen durch die Sulfhydrylgruppe ersetzt werden kann. Dieser Befund stand in Widerspruch zu Warburgs Behauptung, dass das Eisen der einzige autoxydable Zellbestandteil ist. Ferner hatten Mathews und Walker [84] eine Hemmung der Autoxydation durch Blausäure festgestellt, wozu nur geringe Blausäuremengen erforderlich sind.

Sorgfältige Untersuchungen von Warburg haben gezeigt, dass metallfreies Cystein nicht mit Sauerstoff reagiert und die Reaktionsfähigkeit der Sulfhydrylgruppe auf sehr kleine Mengen Eisen als Verunreinigung beruht. Die von Harrison (62) nachgeprüften Versuche wurden bestätigt und auf die Cystein-Glutaminsäure ausgedehnt. Eisen, das an eine Sulfhydrylgruppe gebunden ist, erweist sich als in besonders hohem Masse aktiv.

Auf Grund dieser experimentellen Ergebnisse kommt Warburg zu seiner Definition des Atmungsfermentes:

„Das Atmungsferment ist die Summe aller katalytisch wirkenden Eisenverbindungen, die in der Zelle vorkommen. Rechnen wir der Atmung Vorgänge hinzu, in denen, wie in der Reaktion zwischen Fruktose und Phosphat, besondere Affinitäten zum Eisen erst entstehen, so ist auch die Phosphorsäure ein Bestandteil des Atmungsfermentes und mit ihr alle Stoffe, die durch Spaltungen oder Kondensationen Bindungsmöglichkeiten für das Eisen schaffen. Ob wir nun den Begriff der Atmung eng oder weit fassen, immer wird das Eisen als der sauerstoffübertragende Bestandteil seine zentrale Stellung behalten, denn die Oxydation ist derjenige Vorgang, durch den sich die Atmung von anderen Fermentreaktionen unterscheidet und in der sich der Sinn der Atmung, die Gewinnung der Energie, erfüllt."

III.) Die kombinierte Wasserstoff- und Sauerstoffaktivierungstheorie.

Die Theorie von Szent-Györgyi (128), die kurz vor ihm schon von Fleisch (51) zur Deutung der Cyanwirkung vertreten wurde, ist eine Kombination der Wielandschen und Warburgschen Zellatmungstheorien. Zum Zustandekommen von biologischen Oxydationen sind nach der Ansicht von Szent-Györgyi sowohl eine Wasserstoffaktivierung in Wielands Sinne,wie eine Sauerstoffaktivierung in Warburgs Sinne erforderlich. Bei der Verbrennung im Körper wird der aktivierte Wasserstoff durch aktivierten Sauerstoff verbrannt. Nur durch das Ineinandergreifen beider Prozesse ist eine biologische Oxydation möglich. Der aktivierte Wasserstoff allein vermag nicht den molekularen Sauerstoff zu reduzieren, wie auch der aktivierte Sauerstoff nicht den unaktivierten Wassersfoff der Substratmoleküle zu oxydieren imstande ist.

Szent-Györgyi stützt seine Lehre auf die Deutung des Ver hältnisses der Cyanoinsensibilität der anaeroben Bernsteinsäure oxydation durch Methylenblau zur Cyanempfindlichkeit der aerobe Oxydation. Der Abbau der Bernsteinsäure durch Sauerstoff i Gegenwart von Muskelgewebe wird durch Cyanide stark gehemm Die Reaktion kommt jedoch durch Zusatz von Methylenblau be Abwesenheit von Sauerstoff wieder in Gang. Szent-Györgyi zieh hieraus den Schluss, dass durch die Blausäure die Sauerstoffakti vierung durch Bildung einer Eisenblausäureverbindung im Sinn Warburgs vergiftet ist. Die Folge davon ist ein Stillstehen de Oxydation. Bei der anaeroben „Oxydation" ist eine Sauerstoffak tivierung nicht nötig, da das Methylenblau aktiviertem Sauersto äquivalent ist. Eine Wasserstoffaktivierung muss sich jedoch ereigne haben, da die Oxydation sonst unmöglich ist.

Zur Erhärtung seiner Theorie schien Szent-Györgyi folgende Versuch von Bedeutung zu sein. Das System p-Phenylendiami plus extrahierte Muskulatur reduziert Methylenblau im Vakuum nich während bei Gegenwart von Luft kräftige Oxydation eintritt. E deutet das Ergebnis in der Weise, dass die Paraphenylendiamin oxydation ein Fall von Sauerstoffaktivierung ohne Wasserstoffakti vierung ist, da der Indikator für aktiven Wasserstoff, Methylenblau nicht reduziert wird. Die Oxydation kommt aber trotzdem zustande weil das Diamin schon normalerweise labile Wasserstoffatom enthält.

IV.) Kritik der neueren Atmungstheorien.

1.) Bemerkungen zur Warburgschen Sauerstoffaktivierungstheorie.

Warburg geht in seiner Theorie von der Tatsache aus, das jede lebende Zelle Eisen enthält und dass ein Leben ohne Eise unmöglich ist. Auf Grund einer Reihe von experimentellen Ergeb nissen stellt er die Behauptung auf, „Der sauerstoffübertragend Bestandteil des Atmungsfermentes ist Eisen." Ein 2. wesentliche Faktor bei der Atmung sind neben den spezifisch chemischen Krä ten die unspezifischen Oberflächenkräfte. „Die Atmung ist ein Reaktion an Oberflächen."

Warburgs Anschauung zur Erklärung der Zellatmung gib keine Auskunft über die Beziehungen zwischen den aeroben un

anaeroben Lebensprozessen. Besonders für den Zusammenhang von Oxydations- und Reduktionsprozessen in der Zelle liefert sie keine Erklärung. Das vom Sauerstoff unabhängige Reaktionsgleichgewicht, das sich bei der anaeroben Oxydation zwischen Fumarsäure und Bernsteinsäure unter dem Einfluss der Succinodehydrogenase einstellt, bleibt vollständig unverständlich.

Die sauerstofflose Oxydation mit Methylenblau hat der Sauerstoffaktivierungstheorie grosse Schwierigkeiten bereitet. Warburg erklärt sich die Sache, indem er behauptet: „Chinon, Methylenblau und ähnliche Körper verhalten sich in der Zelle nicht wie molekularer Sauerstoff, sondern wie molekularer Sauerstoff plus Eisen, d. h. wie aktivierter Sauerstoff." Diese Feststellung müsste dann in sich schliessen, dass die „Oxydationsmittel," die „molekularem Sauerstoff plus Eisen äquivalent" sind, die Nährstoffe in Abwesenheit von Enzymen oxydieren, was sicherlich nicht der Fall ist.

Bernsteinsäure wird in wässeriger Lösung von Blutkohle adsorbiert. Nach Warburgs Auffassung wird das Substratmolekül durch nichtspezifische Oberflächenadsorption aktiviert. Warum erfolgt, wo doch auch aktives Eisen im System vorhanden ist, nicht die Oxydation? Hierfür ist nach Warburg ein mehr oder weniger spezifisch gebautes Eisensystem erforderlich. Warum oxydiert ferner ein Gewebspräparat, das reichlich Bernsteinsäure abbaut, nicht auch Substanzen, die viel leichter „oxydiert" werden?

Gegen die Ablehnung einer fermentativen, spezifischen Wasserstoffaktivierung durch Warburg spricht die ausgesprochene Spezifität der Dehydrogenasen, die durch verschiedene Extrahierbarkeit, verschiedene Thermo- und Kryolabilität, durch abweichendes Verhalten einiger stereoisomerer Stoffe unterschieden werden können. Die Succinodehydrogenase kann durch Extraktion von stark ausgewaschener Muskulatur mit sekundärer Natriumphosphatlösung nach Ohlson (102) frei von anderen Dehydrogenasen in Lösung erhalten werden. Sie zeigt alle Eigenschaften eines Fermentes. Durch Erhitzen auf 55° und auch durch Schütteln wird das Enzym inaktiviert. In Gegenwart von Sauerstoff oxydiert die Succinodehydrogenase die gegen Oxydationsmittel sehr resistente Bernsteinsäure, während andere leichter oxydable Substanzen unbeeinflusst bleiben.

Nach Warburgs Ansicht spielen sich die Oxydationsvorgänge an den eisenhaltigen Oberflächen der Zelle ab. Niemand wird an

der Wichtigkeit der Oberflächenstruktur bei Gewebsoxydatione zweifeln. Damit ist jedoch noch nicht bewiesen, dass sie unbeding notwendig ist. So hat Warburg selbst gezeigt (151), dass di Strukturzerstörung im ungefurchten Seeigelei die Atmung nur weni beeinflusst, was er damit erklärt, dass „im ungefurchten Ei di Atmung noch nicht in Beziehung zur Struktur stände", sonder auf einer „Oxydation von Lipoiden unter dem Einfluss von Eisen salzen" beruhen sollte. Die starke Herabsetzung der Atmung durc Frieren von Geweben in flüssiger Luft oder durch Zerreibung in Mörser wird von Warburg als durch Zerstörung der Mikrostruktu bedingt erklärt. In Wirklichkeit ist dieses Verhalten nach Thun berg (139) darauf zurückzuführen, dass gewisse kolloide Atmungs fermente kryolabil sind oder durch das Zerreiben des Gewebe gleichzeitig gewisse labile Enzyme zerstört werden. Die Succino dehydrogenase wird z. B. nicht in ihrer Wirksamkeit geschwächt selbst wenn man die mit Wasser ausgewaschene Muskulatur 1 Minuten lang kräftig in der Achatschale reibt, während dasselb Vorgehen eine starke Schwächung der Enzyme, die den Abbau de Zitronensäure, Oxybuttersäure, Essigsäure und anderer Säure katalysieren, herbeiführt.

Die Warburgsche Theorie verlangt, dass alle Oxydationsvor gänge, die sich durch Eisen katalysieren lassen, durch eine Blau säuremenge, die der Eisenmenge proportional ist, vergiftet wer den. Hiergegen liegen jedoch eine Reihe von Gegenbeweisen vo So hat z. B. Robinson (114) festgestellt, dass bei der Oxydatio von Leinöl mit Haemoglobin, Methaemoglobin und Haemin die de Eisenmenge äquivalente Menge Blausäure nicht vergiftend wirk Haematoporphyrin erweist sich nicht als aktiv. Die Katalyse wir dem Eisengehalt des Moleküls zugeschrieben. Wie ferner Dixo und Thurlow (36) gezeigt haben, beruht die Oxydation von Xan tin nicht auf Eisenkatalyse, da sie durch die Gegenwart von n/10 HCN und Pyrophosphaten unbeeinflusst bleibt, während die Akti vität der Präparate, die höchstens unendlich kleine Beträge Eise enthalten, nicht durch Hinzufügen von Metall wächst. Die Empfind lichkeit der Katalasepräparate gegenüber Blausäure ist nach de Untersuchungen von Hennichs (66) nicht grösser als von Präparate von bedeutend geringerer Aktivität. Die Bestimmung des Eisen gehaltes in Katalasepräparaten verschiedener Reinheitsgrade liefe keine Beziehungen zwischen Eisengehalt und enzymatischer Wirk samkeit. Willstätter (185) hat eine Peroxydase erhalten, die nac

Reinigung durch Dialysieren eine erhöhte Aktivität trotz starker Abnahme des geringen Eisengehaltes aufwies. Später hat er (188) die vollkommene Eisenfreiheit einer Peroxydase gezeigt. Das Eisen ist für die Konstitution derselben ohne Belang. Schon früher konnte Bach (7, 9) in seinen wirksamen Oxydase- und Peroxydasepräparaten Eisen nicht mehr analytisch nachweisen.

Die Tatsache, dass viele Reaktionen durch Spuren von Eisen stark katalytisch beschleunigt werden, ist kein Beweis für eine Sauerstoffaktivierung. Das Eisen wird sicherlich die Substanz aktivieren, braucht deshalb nicht immer den Sauerstoff zu aktivieren. Die oxydationsbeschleunigende Wirkung der Eisensalze schreibt Bredig (26) der Bildung einer Verbindung von Wasserstoffperoxyd und Eisen bzw. Eisenhydrat zu. Wieland schliesst sich Bredigs Auffassung an. Eisenverbindungen mögen wegen ihrer peroxydaseähnlichen Funktion wirken, nachdem und nicht bevor der aktivierte Wasserstoff sich mit dem molekularen Sauerstoff vereinigt hat, um Wasserstoffperoxyd zu bilden.

Der Beweis zugunsten einer Sauerstoffaktivierung durch Eisen basiert fast nur auf dem Phänomen der Hemmung durch Cyanide. Dieselbe Wirkung wie Blausäure üben auf die Gewebsoxydationen Stoffe wie Phenylhydrazin und Hydroxylamin aus, die zum Eisen keinerlei Beziehungen haben. Die Katalase jedoch, die gegenüber oxydativen und reduktiven Einflüssen besonders empfindlich ist (125, 126), wird durch sie sehr schnell vergiftet. Die Wirkung der Blausäure und des Phenylhydrazins ist also auf dieselbe Ursache zurückzuführen, auf eine Vergiftung der Katalase.

Die Warburgsche Sauerstoffaktivierungstheorie ist, wie die soeben auseinandergesetzten Einwände gezeigt haben, in ihrer jetzigen Form als Atmungstheorie unzulänglich und nicht allgemein anwendungsfähig.

2.) Bemerkungen zur kombinierten Wasserstoff- und Sauerstoffaktivierungstheorie.

Alle gegen die Warburgsche Theorie angeführten Bedenken betreffen gleichfalls die kombinierte Wasserstoff- und Sauerstoffaktivierungstheorie. Eine Kritik würde sich eigentlich erübrigen.

Die Hauptstütze der Theorie von Szent-Györgyi ist die Tatsache, dass Muskelgewebe bei Gegenwart von Paraphenylendiamin

Methylenblau im Vakuum nicht entfärbt, woraus er schliesst, das das Gewebe für Methylenblau als Akzeptor keinen Wasserstoff aktiviert hat. Das Phänomen ist jedoch auf eine ganz andere Ursache zurückzuführen. Szent-Györgyi bedenkt nicht, dass Methylenblau kein allgemeiner Indikator für aktivierten Sauerstoff ist. Das Methylenblau kann hier nicht als Wasserstoffakzeptor dienen, weil sein Reduktions-Oxydationspotential niedriger ist als das des Paraphenylendiamins. Es wird nur von Stoffen reduziert, die in der Spannungsreihe negativer sind. Nach einer Beobachtung von Battelli und Stern (22) nimmt das Diamin Wasserstoff aus dem Leukomethylenblau, nicht aber Methylenblau Wasserstoff aus dem Diamin, d. h. das Diamin ist das stärkere Dehydrierungsmittel.

Hiermit fällt der Hauptbeweis für die Lehre von Szent-Györgyi über die biologische Oxydation als Wasserstoffaktivierung plus Sauerstoffaktivierung.

3.) Bemerkungen zur Wielandschen Dehydrierungstheorie

Nach Wielands Theorie ist das Hydroperoxyd das erste Produkt der Hydrierung des molekularen Sauerstoffs. Durch die Wirkung der Katalasen wird dieses Protoplasmagift in Wasser und Sauerstoff gespalten, und auf diese Weise neuer Sauerstoff für die Atmung freigemacht. Gegen Blausäurevergiftung besitzt die Katalase eine viel höhere Empfindlichkeit als die eigentlichen Oxydationsfermente, die Dehydrasen, wodurch eine Anhäufung von Wasserstoffperoxyd, das die einzelnen spezifisch wirkenden Atmungsfermente in ungleichem Masse schädigt, hervorgerufen wird, was unter günstigen Bedingungen nachgewiesen werden kann. Bei der anaeroben Dehydrierung tritt als Zwischenprodukt Wasserstoffperoxyd nicht auf. Die Blausäurevergiftung der Katalase kann daher der Dehydrierung nicht schaden, da die sauerstofflose Verbrennung der Mitarbeit der Katalase nicht bedarf.

Gegen Wielands Theorie sind einige Einwände erhoben worden.

Die Beweisführung der Modellversuche Wielands über katalytische Dehydrierungen durch Edelmetalle hat Willstätter (186) zu entkräften versucht. Eine solche Dehydrierung konnte er nur durchführen, solange noch Spuren von Sauerstoff in dem von ihm verwandten Platin enthalten waren. Waren diese verbraucht, so hörte die Dehydrierung auf, begann aber sofort von neuem, wenn durch

kleine Mengen Sauerstoff das Platin wieder aktiviert war. Nach den Untersuchungen von Gall und Manchot (55) ist die Beobachtung Willstätters nicht allgemein zutreffend.

Gegen Wielands Annahme, dass molekularer Sauerstoff, nicht aktivierter Sauerstoff Oxydationen hervorruft, wenden sich Warburg (160, 161) und auch Thunberg (138). Aus der Fähigkeit des blausäurevergifteten Gewebes, Methylenblau zu reduzieren, folgert Warburg, dass nach Wielands Theorie aktiver Wasserstoff in dem blausäurehaltigen System vorhanden ist. Durch Sättigen dieses Gewebes mit molekularem Sauerstoff müsste dann Oxydation eintreten, da ja alle Bedingungen zum Eintritt der Reaktion erfüllt sind. Nach Warburg fehlt unter diesen Umständen aktiver Sauerstoff für die Oxydationen, weil Cyanide diese Aktivierung verhindern, indem sie das nötige Eisen immobilisieren. Nach Wieland kommt die Oxydation durch die Giftwirkung des Wasserstoffperoxydes zum Stillstand. Die Bildung von Wasserstoffperoxyd als Zwischenprodukt der Atmung und ihre Unzersetzlichkeit im Atmungsprozess leugnet Warburg vollkommen, daher auch die Existenz und Bedeutung der Katalasen.

Wie schon oben erwähnt, beruht die Blausäureschädigung des Gewebes nach Thunberg (138) auf einer Vergiftung des autaktivierten Sauerstoffs, der nur einen kleinen Bruchteil des gesamten Sauerstoffs bildet und der allein mit dem aktivierten Wasserstoff reagieren kann. Katalasewirkung mit Anhäufung von Wasserstoffperoxyd lehnt er gleichfalls ab.

Warburgs und Thunbergs Einwände haben sich als nicht stichhaltig erwiesen. Durch die Untersuchungen verschiedener Forscher ist der Beweis erbracht worden, daß Zusatz von Blausäure infolge Vergiftung der Katalase eine Anhäufung von Wasstoffperoxyd im Gewebe in der Tat erzeugt. Miss Thurlow (142) hat gezeigt, dass bei der aeroben Oxydation der Purinbasen unter dem Einfluss von Xanthinoxydase und auch der Bernsteinsäure durch die Succinodehydrase Wasserstoffperoxyd gebildet wird. Es wird also während des Verlaufs der Reaktion sicherlich Wasserstoff zum molekularen Sauerstoff als Akzeptor transportiert. In eleganter Weise haben Wieland und Fischer, wie bereits früher ausführlich beschrieben, das bei der aeroben Oxydation von Hydrochinon durch das Enzympräparat aus dem Pilze Lactarius Vallerius entstehende Wasserstoffperoxyd quantitativ bestimmt. Die

Gegenwart von Cyaniden steigert den Betrag an Hydroperoxyd Auch dieser Fall liefert keine Bestätigung für eine Sauerstoffaktivierung in Warburgs Sinne, sondern spricht eher für einen direkten Wasserstofftransport zum molekularen Sauerstoff.

Die wichtigste Stütze für die Wielandsche Theorie über die Atmung als Dehydrierungsvorgänge würde der Nachweis sein, daß ein Leben ohne Sauerstoff im Experiment möglich ist, wenn man einen geeigneten Wasserstoffakzeptor an Stelle von Sauerstoff verwendet. Alle in dieser Richtung angestellten Versuche sind bis jetzt fehlgeschlagen (74, 190, 77, 182). Diese negativen Ergebnisse sprechen durchaus nicht gegen Wieland, da die Zelle sich den körperfremden Wasserstoffakzeptoren und ihren Hydrierungsprodukten gegenüber sehr wohl anders verhalten kann wie Sauerstoff und seinem indifferenten Hydrierungsprodukt Wasser gegenüber. Zudem zeigt die sauerstofflose Zellatmung, worauf Winterstein hinweist (190), ganz andere energetische Verhältnisse wie die gewöhnliche Sauerstoffverbrennung und ist als biologische Energiequelle minderwertig. Andere Wasserstoffakzeptoren wie Sauerstoff sind nicht imstande, den Sauerstoff weder bei der Reflexerregbarkeit und der Atmung der Nervenzentren, noch bei der Herztätigkeit zu ersetzen.

C.) Der intermediäre Stoffwechsel.

1.) Methodik zum Aufsuchen von Zwischengliedern des Stoffwechsels.

Schon vor 75 Jahren hat Schönbein auf die Wahrscheinlichkeit hingewiesen, daß die einfachen Nahrungsstoffe über eine ganze Reihe von Zwischenstufen das Endstadium der Verbrennung erreichen. Die Erforschung dieser Zwischenprozesse in der Reaktionskette ist eine schwierige, aber lohnende Aufgabe der physiologischen Chemie und noch weit von der Lösung entfernt. Bei allen biologischen Geschehen ist zu beachten, dass oxydative Zerfalls- und Spaltungsprozesse mit Synthesen und Reduktionsprozessen einhergehen, wodurch die Verhältnisse erheblich kompliziert werden.

Theoretisch ist der Schluss erlaubt, daß, solange sich eine chemische Umsetzung im Gewebe abspielt, sämtliche Zwischenstadien bei diesem Prozeß zugegen sein müssen. Die direkte analytische Bestimmung der Zwischenprodukte ist jedoch mit grosse

Schwierigkeiten verbunden, da einmal die Lebenszeit der entstehenden Stoffe wegen ihrer sofortigen Umsetzung sehr kurz sein kann oder aber die Substanzen in so geringer Menge vorhanden sind, dass sie sich dem analytischen Nachweis entziehen. Hinzu kommt noch, dass gewöhnlich nur die Bestandteile eines abgetöteten Organs bestimmt werden. Normalerweise in der Zelle vorkommende Substanzen können verbraucht sein und so der Bestimmung entgehen, oder aber es können sich fremde Substanzen bilden. Die Fleischmilchsäure wurde deswegen so frühzeitig entdeckt, weil sie sich im absterbenden Gewebe anhäuft. Wie die Untersuchung von Fletcher und Hopkins (52) gezeigt haben, enthält die normale Muskulatur Milchsäure nur in geringen Mengen. In einer Reaktionskette, die sich im dynamischen Gleichgewicht befindet, müssen sich Neubildung und Verbrauch jedes einzelnen Zwischenproduktes genau entsprechen, weil sonst eine Störung des Gleichgewichtes die Folge sein würde. Eine erhöhte Konzentration eines Stoffes sagt nichts über seine Wichtigkeit aus, da der Ablauf einer Reaktion abhängig ist teils von der Konzentration der miteinander reagierenden Substanzen, teils von deren Reaktionsgeschwindigkeit.

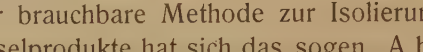
Die direkte analytische Methode ist beim normalen Stoffwechsel nur selten anwendbar. Bei gewissen pathologischen Zuständen wie Diabetes, Cystinurie, Alkaptonurie führt sie manchmal zum Ziele, weil der Körper die Fähigkeit verloren hat, einzelne Nährstoffe bis zum Endstadium abzubauen.

Da der Körper im allgemeinen nur die Substanzen verwerten kann, die er normalerweise umsetzt, so führt man ihm oder dem überlebenden Organ hypothetische Zwischenglieder einer Reaktionskette zu und untersucht dann, ob Umsetzung eingetreten ist. Ist das der Fall, so ist damit der Wahrscheinlichkeitsbeweis erbracht, dass der Stoff auch in Wirklichkeit ein Zwischenprodukt des normalen Stoffwechsels ist. Andererseits wird man ein durch theoretische Spekulation wahrscheinliches Zwischenglied aus der Reaktionskette streichen können, wenn es diesen Anforderungen nicht genügt.

Die Ausprobiermethode ist leider nicht einwandfrei. So wird z. B. der Aethylalkohol sehr leicht im Körper verbrannt, während er als normales Stoffwechselprodukt bisher nicht mit Bestimmtheit nachgewiesen wurde. Nach den Untersuchungen von Thunberg (131, 134) regen eine ganze Reihe von Stoffen, wie Bernsteinsäure, Fumarsäure und Äpfelsäure den Sauerstoff-

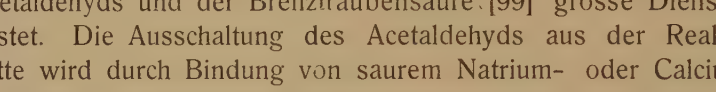
verbrauch der überlebenden Froschmuskulatur stark an, so daß die Frage berechtigt war, ob es sich bei diesen Stoffen nicht um normale Zwischenstadien bei der Verbrennung der Fettsäuren handeln könne. Durch den Nachweis der Bernsteinsäure [41] und Fumarsäure [42] im frischen Fleische durch Einbeck kann die Annahme als gesichert gelten.

Als sehr brauchbare Methode zur Isolierung der intermediären Stoffwechselprodukte hat sich das sogen. A b f a n g v e r f a h r e n erwiesen. Es besteht darin, dass man den entstehenden Körper durch Zusatz von Stoffen, die sich mit ihm verbinden, vor weiterem Abbau schützt. Besonders bei der Erforschung der Gärungserscheinungen hat diese Methode, wie zum Abfangen des Acetaldehyds und der Brenztraubensäure [99] grosse Dienste geleistet. Die Ausschaltung des Acetaldehyds aus der Reaktionskette wird durch Bindung von saurem Natrium- oder Calciumsulfit erreicht, die sich mit Aldehyden und Ketonen zu gut kristallisierenden Doppelverbindungen vereinigen. Diese können durch verdünnte Säuren oder Laugen wieder gespalten werden.

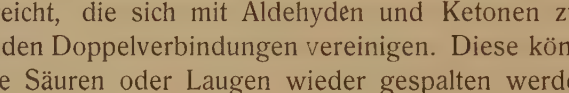


$$CH_3.CHO + NaHSO_3 = CH_3.\overset{\overset{\displaystyle OH}{/}}{CH}\text{-}O.SO_2Na \quad \text{(Acetaldehyd-schwefligs.Na)}$$

Als sehr geeignet hat sich auch das Dimedonvorfahren von Neuberg und Reinfurth zum Abfangen des Acetaldehyds erwiesen. Einfache Aldehyde kondensieren sich mit dem 5,5-Dimethyl-cyclohexandion (1,3) (Dimethyl-hydroresorzin) leicht unter Abspaltung von Wasser. Zuckerarten und Ketone zeigen diese Reaktion nicht.

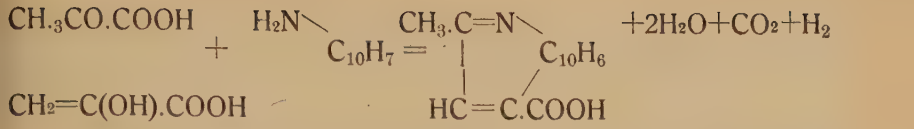


$$\begin{array}{c} H_2C\text{-}CO\text{-}CH_2 \\ | \qquad\quad | \\ (CH_3)_2C\text{-}CH_2\text{-}CO \end{array} + \begin{array}{c} O \\ \| \\ CH.CH_3 \end{array} + \begin{array}{c} H_2C\text{-}CO\text{-}CH_2 \\ | \qquad\quad | \\ OC\text{-}CH_2\text{-}C(CH_3)_2 \end{array}$$



$$= \begin{array}{c} H_2C\text{-}CO\text{-}CH\text{—}CH\text{—}HC\text{-}CO\text{-}CH_2 \\ | \qquad\quad | \qquad\quad | \qquad\quad | \qquad\quad | \\ (CH_3)_2\ C\text{-}CH_2\text{-}CO \quad CH_3\ OC\text{-}CH_2\text{-}C\ (CH_3)_2 \end{array} + H_2O$$

Die Möglichkeit, die Brenztraubensäure, die wie der Acetaldehyd eine zentrale Stellung beim Abbau der Nährstoffe einnimmt, durch ein Abfangverfahren aus der Reaktionskette auszuscheiden, wird durch Zugabe von α Naphthylamin zum Reaktionsgemisch erreicht. Das entstehende Produkt ist die α Methyl-β-naphtocinchoninsäure.



Erst mit Hilfe des Abfangverfahrens ist es gelungen, die Chemie der Gärungserscheinungen aufzuklären.

Ein Fortschritt für das Studium der Gewebsoxydation war die Einführung der Thunbergschen Methylenblaumethode (138), die eine Anwendung der Wielandschen Dehydrierungstheorie darstellt. Im Vergleich mit den gasanalytischen Methoden, bei der der Verbrauch an physiologischem Wasserstoffakzeptor, an Sauerstoff, bestimmt wird, besitzt die Methylenblaumethode wie jedes andere indirekte Verfahren den prinzipiellen Nachteil, dass sie die Reduktion eines körperfremden Farbstoffes misst. Es können daher die auf indirektem Wege erhaltenen Resultate erst dann anerkannt werden, wenn sie mit den auf gasanalytischem Wege erhaltenen übereinstimmen. Es hat sich gezeigt, dass Methylenblau alle Stoffe, die als intermediäre Stadien im Abbau der Nährstoffe erkannt sind, anaerob zu oxydieren vermag. Damit besteht der Wahrscheinlichkeitsbeweis, dass sich sämtliche intermediären Stoffwechselprodukte unter geeigneten Bedingungen und bei Anwesenheit des spezifisch wirkenden Fermentes Methylenblau gegenüber als „Donatorsubstanzen" verhalten werden. Das Methylenblauverfahren zeichnet sich durch grosse Einfachheit der technischen Ausführung und Genauigkeit aus und benötigt nur geringe Gewebsmengen. Es wird lediglich die Zeit bestimmt, die nötig ist, um eine gegebene Menge Methylenblau unter dem Einfluss einer Suspension von feinverteiltem Gewebe und der zu untersuchenden Donatorsubstanz im Vakuum zu entfärben. Die Entfärbungsmethode übertrifft an Empfindlichkeit alle anderen Methoden. Mit dem gasanalytischen Verfahren gelingt es z. B. nicht, eine Oxydation von Ameisensäure, Essigsäure und Buttersäure nachzuweisen, während die Methylenblaumethode eine Dehydrierung erkennen lässt. Feinzerschnittene und mit Wasser extrahierte Muskulatur allein oder die Donatorsubstanz besitzen kein Entfärbungsvermögen für Methylenblau. Ein solcher entfärbender Prozess ist von der Anwesenheit eines sog. chemischen, katalytischen Dreikörpersystems abhängig, in dem die Donatorsubstanz von dem zu untersuchenden Stoff, die Akzeptorsubstanz vom Methylenblau und der Katalysator von den von der Zelle gelieferten spezifisch

wirkenden Enzymen repräsentiert werden. Beim Fehlen eines dieser 3 Komponenten kann keine Umsetzung stattfinden. Ein Nachweis der durch die Methylenblauoxydation entstehenden Stoffe ist bis jetzt jedoch nie erbracht worden.

II.) Abbau der Fettsäuren.

Zum Studium des biologischen Abbaus der Fettsäuren im Tierversuch haben sich die phenylsubstituierten Verbindungen als sehr geeignet erwiesen, weil die entstehenden Reaktionsprodukte durch den Benzolkern vor der vollständigen Zerstörung bewahrt bleiben. Es hat sich gezeigt, dass die Kohlenstoffkette von der Karboxylgruppe her immer durch Oxydation des Kohlenstoffatomes um 2 Glieder abnimmt. Phenylbuttersäure geht z. B. in Phenylessigsäure über:

$$C_6H_5.CH_2.CH_2CH_2.COOH \text{ —» } C_6H_5.CH_2COOH$$

Auf diese Weise entstehen schliesslich aus den aliphatischen Fettsäuren mit einer geraden Anzahl von Kohlenstoffatomen Buttersäure und aus ihr β Oxybuttersäure. Schon Embden (44, 45) hat diese Auffassung von der Oxydation der Fettsäuren im Stoffwechsel vertreten.

$$R.CH_2.CH_2.CH_2.COOH + {}^1/_2O_2 \text{ —» } R.CH_2.CH(OH).CH_2.COOH + {}^1/_2O_2$$

$$\text{—» } R.CH_2.COOH + CH_3.COOH$$

Den Zusammenhang des Fettsäureabbaus mit der Wielandschen Dehydrierungstheorie hat Thunberg (138, 139) hergestellt. Er hat in seiner grossen Methylenblauarbeit gezeigt, dass eine grosse Anzahl von organischen Säuren, von denen eine Reihe als Intermediärstadien im Abbau der Nährstoffe erkannt sind, bei Gegenwart von gewaschenem Muskelgewebe und Methylenblau anaerob unter Reduktion des Farbstoffes oxydiert werden.

Auf Grund vieler experimenteller Ergebnisse ist der Abbau der Fettsäuren nicht das Resultat der direkten Reaktion des Substrats mit dem Sauerstoffmolekül, sondern die Folge von Dehydrierungs-, Hydratisierungs- und Dekarboxylierungsvorgängen.

Das erste Dehydrierungsprodukt einer gesättigten Fettsäure ist eine ungesättigte Fettsäure.

$$R.CH_2.CH_2.COOH \longrightarrow R.CH{=}CH.COOH$$

So entsteht aus der Bernsteinsäure Fumarsäure, die von Einbeck (43) bei der Sauerstoffatmung nachgewiesen wurde, aus Buttersäure Crotonsäure.

$$HOOC.CH_2.CH_2.COOH \longrightarrow HOOC.CH{=}CH.COOH$$

$$CH_3.CH_2.CH_2.COOH \longrightarrow CH_3.CH{=}CH.COOH$$

Weitere Dehydrierung der zweifach ungesättigten Säuren müsste theoretisch zu einer dreifach ungesättigten Säure führen, womit die Dehydrierungsmöglichkeit erschöpft wäre. Fumarsäure müsste Acethylendikarbonsäure geben:

$$HOOC.CH{=}CH.COOH \longrightarrow HOOC.C{\equiv}C.COOH$$

Allein die Zerlegung der Kohlenstoffkette geht in einer anderen Richtung weiter. Battelli und Stern (21) haben gefunden, dass Fumarsäure durch tierisches Gewebe unter Wasseranlagerung in Äpfelsäure überführt wird. Schon vorher hatten Friedmann und Masse (53) die Beobachtung gemacht, dass Crotonsäure durch Leberbrei in β Oxybuttersäure umgewandelt wird. Auf diese Weise entstehen durch wasserübertragende Fermente, die Hydratasen, aus den ungesättigten Fettsäuren die Oxysäuren, die sich als vortreffliche Aktivatoren erweisen.

$$R.CH{=}CH.COOH \longrightarrow R.CH(OH).CH_2.COOH$$

$$HOOC.CH{=}CH.COOH \longrightarrow HOOC.CH(OH).CH_2.COOH$$

$$CH_3.CH{=}CH.COOH \longrightarrow CH_3.CH(OH).CH_2.COOH$$

Es ist so auf enzymatischem Wege ein neues dehydrierbares System entstanden. Dehydrierung der Oxysäuren führt zu den Ketosäuren.

$$R.CH(OH).CH_2.COOH \longrightarrow R.C(=O).CH_2.COOH$$

$HOOC.CH(OH).CH_2COOH \longrightarrow HOOC.C(=O).CH_2COOH$ (Oxalessigsäure)

$CH_3.CH(OH).CH_2.COOH$ —» $CH_3.C(=O).CH_2.COOH$ (Acetessigsäure)

Bei den Ketokarbonsäuren sind zwei Zerfallsmöglichkeiten gegeben:

1.) Ketonspaltung: Sie führt zu Kohlendioxyd und Keton

$R.\ C(=O).\ CH_2.\ COOH$ —» $R.\ C(=O).\ CH_3 + CO_2$

$CH_3.\ C(=O).\ CH_2.\ COOH$ —» $CH_3.\ C(=O).\ CH_3$ (Aceton) $+ CO_2$

Die Kohlendioxydabspaltung geht in der Zelle auf enzymatischem Wege durch die Carboxylase (Neuberg = 98) vor sich.

2.) Säurespaltung: Die Ketokarbonsäure zerfällt durch hydrolytische Spaltung in Essigsäure und die um 2 Kohlenstoffatome ärmere Carbonsäure.

$$\left.\begin{matrix} R.C{=}O \\ OH \end{matrix}\right\} \begin{matrix} CH_2.COOH \\ H \end{matrix} \text{ —» } R.COOH + CH_3.COOH$$

$$\left.\begin{matrix} CH_3.CO \\ HO \end{matrix}\right\} \begin{matrix} CH_2.COOH \\ H \end{matrix} \text{ —» } 2\ CH_3.COOH$$

Bei Diabetes entsteht bei Mangel an Kohlehydraten aus der Acetessigsäure Aceton, das kein normales intermediäres Stoffwechselprodukt ist. Der normale Zerfallsweg führt über Essigsäure.

Wie aus der soeben entwickelten Annahme über den Abbau der Fettsäuren hervorgeht, zerfällt eine Kohlenstoffkette durch die Tätigkeit der Dehydrasen, Hydratasen und Carboxylasen bei Gegenwart eines geeigneten Wasserstoffakzeptors — bei der biologischen Oxydation ist es Sauerstoff — in so viele Moleküle Essigsäure, wie der halben Kohlenstoffzahl entspricht. Der Nachweis der Essigsäure als Zwischenprodukt der Atmung ist, wie des Formaldehyds bei der Kohlensäureassimilation, bis jetzt noch nicht gelungen, während ihr intermediäres Auftreten mit Sicherheit anzunehmen ist. Da aus Essigsäure alle übrigen Fettsäuren synthetisiert werden, wird jetzt auch verständlich, warum alle in der Zelle vorkommenden Fettsäuren eine gerade Anzahl von Kohlenstoffatomen besitzen.

Nach einer von Löb (80) geäusserten Ansicht ist die Essigsäure ein gemeinsames Abbauprodukt sowohl der Kohlehydrate, Fette und Eiweißkörper. Wie in-

dessen im Organismus die Essigsäure weiter abgebaut wird, ist bis jetzt noch unbekannt. Porges (106) hat auf die Möglichkeit hingewiesen, dass der grössere Teil der Essigsäure zu Synthesen verwendet wird. Thunberg (139), der auch für Essigsäure ein Dehydrierungsvermögen festgestellt hat, ist der Meinung, dass der Weg zum weiteren Abbau der Nährstoffe über Bernsteinsäure durch intermolekulare Dehydrierung von 2 Molekülen Essigsäure führt.

$$\begin{matrix} HOOC.CH_2 \\ H \end{matrix} \quad \begin{matrix} H_2C.COOH \\ H \end{matrix} \quad \text{—»} \quad HOOC.CH_2.CH_2.COOH$$

Würde der biologische Abbau der Essigsäure tatsächlich in dieser Richtung verlaufen, so wäre damit eine starke Stütze für Wielands Auffassung über den Mechanismus der Verbrennungsvorgänge geschaffen.

Das Zustandekommen dieser Reaktion ist von rein chemischen Standpunkt aus schwer zu verstehen, da die Ueberführung der Essigsäure in Bernsteinsäure in vitro sich nur sehr schwer erzwingen lasst. Auf der anderen Seite vermag die Zelle die Vereinigung von Knallgas nicht zu katalysieren, während sie die Bernsteinsäure, die von den gewöhnlichen Oxydationsmitteln nur wenig angegriffen wird, spielend leicht zu dehydrieren imstande ist. Warum sollte sie nicht auch Essigsäure durch intermolekulare Dehydrierung in Bernsteinsäure überführen können? Thermodynamisch ist diese Reaktion sehr gut denkbar, wie die Affinitätsverhältnisse dieses Vorganges zeigen.

Die molekulare Verbrennungswärme der Essigsäure beträgt 209,4, die der Bernsteinsäure 356,8 Kalorien. Bei der Entstehung der Bernsteinsäure aus 2 Molekülen Essigsäure wird je ein Wasserstoffatom abgespalten. 2 Mol Essigsäure — 2H geben also 1 Mol Bernsteinsäure. Aus der Differenz der Verbrennungswärmen ergibt sich der Wärmewert der beiden Wasserstoffatome. 418,8—356,8 = 62 Kal., die oxydative Dehydrierungswärme. Die Hydrierungswärme ist nun gleich der Differenz aus der Bildungswärme des Wassers (68,4) und der oxydativen Dehydrierungswärme. Sie beträgt für Bernsteinsäure 68,4—62 = 6,4 Kal, und zeigt, dass die beiden überständigen Wasserstoffatome der Essigsäure nur sehr lose haften, wie eine Gegenüberstellung mit anderen Substanzen z. B. Alkohol und Hydrochinon (181) lehrt.

$2\ CH_3.COOH \longrightarrow HOOC.CH_2.CH_2.COOH + H_2 \quad -6$ Kal

$CH_3.CH_2.OH \longrightarrow CH_3.C(=O)H + H_2 \quad -21$ Kal

$C_6H_4(OH)_2 \longrightarrow C_6H_4(=O)_2 + H_2 \quad -42$ Kal

Die thermodynamischen Voraussetzungen für die Dehydrierung der Essigsäure zu Bernsteinsäure sind als äusserst günstig zu bezeichnen. Aber selbst wenn dem nicht so wäre, so darf nicht ausser Acht gelassen werden, dass die Zelle auch zu endothermischen Umsetzungen fähig ist, indem sie den Energiebedarf durch Koppelung mit einer exothermischen Reaktion bestreitet.

Für die Bildung der Bernsteinsäure aus Essigsäure spricht noch der Umstand, dass das Bernsteinsäure dehydrierende Ferment das stärkste und verbreiteste im Körper ist.

Die Dehydrierung der Essigsäure zu Bernsteinsäure ist ein Fall von Synthetisierung einer längeren Kohlenstoffkette aus zwei kürzeren. Die Entdeckung der Dehydrasen liefert so eine Erklärungsmöglichkeit für die Entstehung von langen Kohlenstoffketten.

Der weitere Abbau der Bernsteinsäure führt, wie schon oben erwähnt, über Fumarsäure und Aepfelsäure zu Oxalessigsäure.

Die Oxalessigsäure zerfällt sehr leicht durch Carboxylasewirkung in Kohlendioxyd und Brenztraubensäure, die wiederum unter Abspaltung von Kohlendioxyd durch Carboxylase in Acetaldehyd übergeht.

$HOOC.CO.CH_2.COOH \longrightarrow CO_2 + HOOC.CO.CH_3 \longrightarrow CO_2 + CH_3.C(=O)H$

Der Abbau der Ketosäuren ist von Wieland (176) genau sowohl im Modellversuch wie auch im Tierversuch studiert worden. Es hat sich dabei gezeigt, dass die Carboxylasewirkung durch Waschen des Gewebes vollkommen verschwindet, das Ferment also auswaschbar ist.

Die Dehydrierung des Acetaldehyds zu Essigsäure erfolgt über das Acetaldehydhydrat (170), da der freie Aldehyd über keine reaktionsfähigen Wasserstoffatome verfügt.

$CH_3.C(=O)H + HOH \longrightarrow CH_3.C(OH)_2H \longrightarrow CH_3.COOH$

Mit dem Übergang der Essigsäure in Bernsteinsäure beginnt der Abbaucyklus von neuem.

III.) Abbau der Kohlehydrate.

1.) Abbau der Kohlehydrate über Milchsäure.

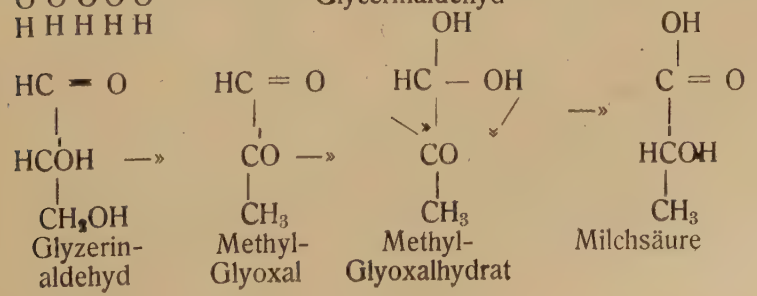
Der oxydative Abbau der Kohlehydrate erfolgt, wie die eingehenden Untersuchungen von Fletcher und Hopkins (52), Embden (46) und Meyerhof (87, 88) gezeigt haben, nicht direkt am intakten Hexosemolekül, sondern bei der d-Milchsäure, die anaerob über zum Teil noch unbekannte Zwischenstufen gebildet wird. Gewöhnlich wird angenommen, dass eine Hexosephosphorsäure, das Embdensche Lactacidogen, auf enzymatischen Wege in 2 Moleküle Milchsäure zerfällt.

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ CH_3CH(OH).COOH$$

Dieser Abbau der Kohlehydrate ist an den Kontraktionsvorgang des Muskels gebunden, findet aber auch im ruhenden Muskel sowie in feinverteilter Muskulatur statt, wie die bekannten Untersuchungen von Fletcher und Hopkins (52) bewiesen haben.

Die Milchsäure ist das am besten bekannte Intermediärprodukt im Kohlehydratstoffwechsel und spielt eine äusserst wichtige Rolle, besonders bei der Atmung der Muskulatur.

Die Zwischenstufen, die beim anoxydativen Prozess der Milchsäurebildung aus Zucker passiert werden, sind noch unbekannt und nach Embden (46) wahrscheinlich Glyzerinaldehyd oder nach Dakin Methylglyoxal, das durch eine innere Cannizzarosche Reaktion seines Hydrates (Neuberg 96, 97) in Milchsäure übergeht. Nach Wieland folgen beide Stufen aufeinander.



So hat z. B, Löb (81, 82) gefunden, dass Glycerinaldehyd auf enzymatischem Wege durch die Formelemente des Blutes in Milchsäure übergeführt wird, während Neuberg (96, 97) sie aus Methylglyoxal unter dem Einfluss von Geweben, Organextrakten und Organbrei erhielt. Der letzte Vorgang ist reversibel. Der sichere Beweis für das Auftreten dieser Zwischenprodukte bei der Milchsäurebildung ist bis jetzt noch nicht geliefert.

Der exotherme Abbau der Kohlehydrate beginnt bei der Milchsäure, aus der durch Dehydrierung Brenztraubensäure entsteht, die wiederum durch Dekarboxylierung in Acetaldehyd übergeht. Die Kohlensäure abspaltenden Fermente bezeichnet Neuberg (98) als Carboxylasen, den Vorgang selbst als Decarboxylierung. Hydratisierende Fermente schaffen der Zelle im Acetaldehydhydrat ein neues dehydrierbares System aus dem dann Essigsäure hervorgeht.

$CH_3.CH(OH).COOH$ —» $CH_3.CO.COOH$ (Brenztraubensäure) —» $CH_3C(=O)H + CO_2$—»$+H_2O$—»$CH_3.C(OH)_2H$—»$CH_3.COOH$

Die weitere Dehydrierung der Essigsäure erfolgt dann nach den unter „Abbau der Fettsäuren“ beschriebenen Prinzipien über die Stufen der Bernsteinsäure, Fumarsäure, Äpfelsäure, Oxalessigsäure, Brenztraubensäure, Acetaldehyd, Acetaldehydhydrat, Essigsäure u. s. f.

2.) Abbau der Kohlehydrate auf dem Nicht-Milchsäureweg.

1923 haben Bissinger, Lesser und Zipf (25) auf die Möglichkeit hingewiesen, dass es ausser dem Zuckerabbau über Milchsäure noch einen anderen Abbaumechanismus gibt. Auch Gottschalk (60), sowie Neuberg und Gottschalk (101) erörtern dieselbe Möglichkeit. Für die Annahme zweier Wege im Hexoseabbau sprechen eine Reihe von Versuchsergebnissen.

Seitdem v. Mehring und Minkowski die Bedeutung des Pankreas für den Kohlehydratstoffwechsel im Organismus erkannt haben, ist der Einfluss des hypothetischen Pankreashormones auf die Atmung der Gewebe, besonders auf den Zuckerabbau eingehend studiert worden. Aber erst die Entdeckung des Insulin durch die Torontoforscher aktualisierte das Problem der Verwert

barkeit des Traubenzuckers und der Kohlehydrate überhaupt im normalen und diabetischen Organismus, das seit vielen Jahren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen und vieler Theoriebildungen gewesen war. Neuberg und Mitarbeiter (100, 101) haben gezeigt, dass Insulin die Acetaldehydbildung im überlebenden Gewebe kräftig anregt, was auf eine beschleunigte Gewebsoxydation schliessen lässt. Nach Ahlgren (4) ist der stimulierende Einfluss des Insulins an die Intaktheit eines Dreikörpersystems, das aus Glukose, Insulin und einem in den Geweben vorhandenen, unbekannten Enzym besteht, gebunden. Glukose kann in diesem System nicht durch Fruktose oder Galaktose, wohl aber in geringen Mengen durch Mannose ersetzt werden. Im Gegensatz zu Glukose übt Zusatz einer dieser Zuckerarten eine fördernde Wirkung auf die Gewebsoxydation aus. Die Untersuchungen von intermediären Stoffwechselprodukten ergab das interessante Resultat, dass die Glukose im Dreikörpersystem nicht durch Milchsäure oder Acetonkörper, wie βOxybuttersäure, Acetessigsäure ersetzbar ist, indem Insulin die Oxydation dieser Stoffe nicht fördert. Insulin übt keinen direkten Einfluss auf den Abbau der Acetonkörper aus. Aceton wird vom Gewebe überhaupt nicht abgebaut, wie die Methylenblauversuche von Ahlgren (4) zeigen. Der normale Abbau der Acetessigsäure führt also nicht über Aceton.

Wie kommt es, dass Insulin den Abbau der Milchsäure, die doch als Spaltungsprodukt der Glukose angesehen wird, nicht beschleunigt? Verläuft der Glukoseabbau bei Anwesenheit von Insulin und spezifischem Ferment nicht vielleicht in anderen Bahnen? Gottschalk und Neuberg, (56, 101) haben die überraschende Feststellung gemacht, dass die Milchsäure bei Gegenwart von Insulin im Gegensatz zu einer Reihe von Kohlehydraten im Leberbrei keinen Acetaldehyd bildet. Wie diese Versuche zeigen, können Kohlehydrate zu Acetaldehyd oxydiert werden, ohne die Milchsäurestufe zu passieren. Zu demselben Resultat kam Ahlgren (4) bei Verwendung der Thunbergschen Methylenblaumethode. Er hat gefunden, dass bei Gegenwart von Milchsäure im Ueberschuss zu einer Gewebssuspension, in der ein Zusatz von Laktat keine Atmungssteigerung hervorruft, durch hinzugefügtes Insulin plus Glukose die Methylenblaureduktion bzw. der Sauerstoffverbrauch zunimmt. Der Abbauweg des Zuckers kann also in diesem Falle nicht über Milchsäure führen.

Dass die Gewebe pankreasdiabetischer Tiere auch ohne Anwesenheit von Insulin Glukose und andere Kohlehydrate verwerten können, ist von verschiedenen Forschern gezeigt worden. Nach Lesser baut überlebende Muskulatur von Fröschen, denen vorher das Pankreas exstirpiert war, ihre Kohlehydrate ebensogut ab, wie normale Muskulatur. Auch zugesetzte Glukose wird auf dieselbe Art über Milchsäure, wie Meyerhof (88) bewiesen hat, dissimiliert.

Der Nachweis des doppelten Abbaumechanismus der Kohlehydrate spielt für die Theorie des Pankreasdiabetes eine grosse Rolle. Es liegt nicht die ganze Zuckerverwertung danieder, sondern nur die auf dem Nicht-Milchsäureweg aus Glukose. Muskelarbeit vermehrt die Acidosis stark.

Der grösste Teil der Kohlehydrate wird über Glukose abgebaut. Die Glukoseoxydation ist von der Intaktheit des Dreikörpersystems Insulin, Glukose und spezifisches Ferment abhängig. Mangel an Insulin führt zu Diabetes und schliesslich zum Auftreten von Acetonkörpern, die gerade bei Ausschluss der Kohlehydrate aus der Kost oder unzureichender Zufuhr bzw. Ausnutzung derselben aus den Fettsäuren und bei den schweren Formen zum Teil aus den Eiweisskörpern entstehen. Ein starkes Ansteigen der Aceton- und Acetessigsäureausscheidung findet sich bei Insulintoxikose, wo der Gewebszucker stark vermindert ist, während der Inanition und bei solchen Krankheiten, die mit einer reichlichen Einschmelzung des Körpereiweisses einhergehen, wie im Fieber, bei Geisteskrankheiten mit Abstinenz und bei Kachexien. Zuckerausscheidung durch Inaktivierung des spezifischen Fermentes scheint bei der Phlorhizinvergiftung vorzuliegen (4).

Polymerisationsprodukte der Glukose z. B. Glykogen und Dextrin, Fruktose und Galaktose werden auf dem Nichtmilchsäureweg ohne Mitwirkung von Insulin in den Geweben oxydativ abgebaut (4. 100). Ein solches Verhalten erklärt die gute Verwertbarkeit der Fruktose und Galaktose im pankreasdiabetischen Organismus.

Der Abbaumechanismus der Kohlehydrate auf dem Nicht-Milchsäureweg ist bis jetzt gänzlich unbekannt.

3.) Theorie über das Koferment der Milchsäureverbrennung.

Der Verlauf gewisser enzymatischer Prozesse ist ausser der Gegenwart von Enzym und Substrat bei geeigneten Bedingungen an die Anwesenheit eines spezifischen Aktivators, Koferment oder

Koenzym genannt, gebunden. Am besten bekannt ist das von Harden und Young (60) entdeckte Gärungskoferment, welches sich unter anderem im Hefekochsaft findet, also hitzebeständig ist. Nach Meyerhof (89) aktiviert Hefekochsaft auch die erloschene Atmung der gewaschenen Acetonhefe, was er auf die Anwesenheit eines „Atmungskörpers" im Kochsaft zurückführt. Der Atmungskörper und das Gärungskoferment sind wahrscheinlich identisch. Auch im Muskelkochsaft und im Kochsaft vieler Organe kommt dieser Atmungskörper vor. Seine Aufgabe ist, die erloschene Atmung der Muskulatur durch Aktivierung des Fermentes wieder in Gang zu bringen (87, 90). Battelli und Stern (19) hatten schon früher die Beobachtung gemacht, dass ein wässeriger Extrakt von Muskelgewebe die durch Waschen aufgehobene Atmung zerschnittener Muskulatur wieder erregt. Sie schrieben diese Wirkung einer Substanz zu, die sie „Pnein" nannten. Sie denken auch an die Möglichkeit, dass ihr Pnein keine einheitliche Substanz ist, sondern aus einem Gemenge von verschiedenen Stoffen bestehen kann. Nach Thunberg (134) beruht die erregende Wirkung des Pneins auf der Zufuhr von ausgewaschenem Brennstoff. Auch Meyerhof gibt zu, dass der Atmungskörper zum Teil aus Brennmaterial wie Succinat und Laktat besteht. Von grosser Bedeutung ist nach ihm der darin vorkommende Phosphatgehalt und die Anwesenheit von einem oder mehreren Kofermenten. Nach seiner Hypothese bewirkt der Atmungskörper die Verkoppelung der organischen Moleküle mit Phosphorsäure und macht sie dadurch für die Stoffwechselfermente angreifbar. Glycerinphosphorsäure und gewisse mehrbasische organische Säuren wie Bernsteinsäure bedürfen für ihre Verbrennung gar kein oder nur wenig Koferment. Milchsäure und Glyoxalsäure dagegen werden bei Abwesenheit von Koferment nicht oxydiert. Durch Mangel an Koferment erfolgt nach Meyerhof keine Verbrennung der Milchsäure und Glyoxalsäure durch den kräftig extrahierten Muskelrückstand.

Das Problem der Atmungskörpertheorie ist noch vollständig ungelöst. Harden und Young (61) haben gezeigt, dass das Gärungskoferment während der Gärung verbraucht wird, da das Substrat Glukose bei ihren Versuchen im Ueberschuss vorhanden ist. Denkbar wäre auch, dass bei der intensiven Extraktion der Muskulatur das die Milchsäureverbrennung vermittelnde Enzym verloren geht. Andererseits ist, wie die Erregung der Zellatmung durch Insulin bei Gegenwart von Glukose zeigt, der Deutungsversuch

nicht von der Hand zu weisen, dass die Kofermentwirkung durch Hormone, die bei der Extraktion aus der Zelle entfernt werden, hervorgerufen wird.

IV.) Abbau der Aminosäuren.

Früher wurde allgemein die Ansicht vertreten, dass die Aminosäuren durch hydrolytische Abspaltung von Ammoniak in die entsprechenden Oxysäuren übergehen, die dann zu den Endproprodukten der Verbrennung oxydiert werden.

$$R.CH(NH_2).COOH + H_2O \longrightarrow R.CH(OH).COOH + NH_3$$

Neubauer, Fromherz und Wieland haben die Frage der Desamidierung der Aminosäuren erfolgreich behandelt und viele Probleme auf diesem Gebiete aufgeklärt. Nach den Untersuchungen von Neubauer und Fromherz (94, 95) spielt nicht die hydrolytische sondern oxydative Desamidierung unter Bildung von Ketosäuren beim Abbau der Aminosäuren eine wichtige Rolle. Die NH_3-Abspaltung setzt erst nach der Oxydation ein. Durch Oxydation entsteht nach der Ansicht von Neubauer (94) eine Iminosäure und aus ihr durch Anlagerung von Wasser das Iminosäurehydrat, Das Hydrat zerfällt teils in Ammoniak, teils in die entsprechende Ketosäure.

$$R.CH(NH_2).COOH + O \longrightarrow R.C{=}NH.COOH \longrightarrow + H_2O \longrightarrow$$
$$RC(OH)(NH_2).COOH \longrightarrow R.CO.COOH + NH_3$$

Die Ketosäuren werden nach den für die Fettsäuren geltenden Gesetzen weiter verbrannt und das für den Körper giftige Ammoniak in der Leber zu Harnstoff synthetisiert. $2\ NH_3 + CO_2 = CO(NH_2)_2$

Der Abbaumechanismus der Aminosäuren mit Hefe einerseits und durch tierisches Gewebe andererseits ist nach Neubauer völlig analog. Der Unterschied besteht lediglich darin, dass Hefe den durch Dekarboxylierung aus den Ketosäuren entstehenden Aldehyd zu Alkohol reduziert, während tierisches Gewebe ihn zu der entsprechenden Säure oxydiert.

In einigen Abhandlungen widmet sich Wieland (176, 177, 178) dem Studium der Oxydation der Aminosäuren. Er untersuchte zunächst die dekarboxylierende Wirkung der nicht enzymatischen Katalysatoren wie Palladiumschwarz und Kohle auf Ketosäuren z. B. Brenztraubensäure, Oxalessigsäure und Phenylbrenztraubensäure

als Substrat. Hierbei machte er die Beobachtung, dass die Ketosäuren durch die genannten Aktivatoren in geringem Masse dekarboxyliert werden. Eine Ausnahme macht Oxalessigsäure, die rasch bei Gegenwart von Kohle oder Palladium in der Stickstoffbirne in Kohlendioxyd und Brenztraubensäure zerfällt. Die Brenztraubensäure reagiert mit Katalysatoren unter Stickstoff überhaupt nicht. Bei Gegenwart von Sauerstoff erfolgt rasch unter Kohlendioxydabspaltung Oxydation zu Essigsäure. Wieland hält bei dieser Autoxydation die intermediäre Bildung eines Peroxydes für wahrscheinlich. Das Peroxyd gibt leicht Kohlendioxyd ab und geht dadurch in Persäure über, die einem 2. Molekül Ketosäure als Wasserstoffakzeptor dient; wodurch 2 Moleküle der um ein Wasserstoffatom niederen Fettsäure entsteht.

$$R.CO.COOH + O_2 \longrightarrow R.C(O_2).COOH \longrightarrow R.C(=O).OOH + CO_2$$

Peroxyd — Persäure

$$R.C(=O).OOH + R.CO.COOH \longrightarrow 2\ R.COOH + CO_2$$

Nach den Versuchen über das Verhalten der Ketosäuren Katalysatoren gegenüber haben Wieland und Bergel (177) den Reaktionsverlauf der Aminosäuren unter denselben Bedingungen untersucht. Nach ihnen entstehen bei der katalytischen Oxydation der Aminosäuren in vitro Aldehyde meist mit einem Kohlenstoffatom weniger als die Aminosäure. Aus Ketosäuren würden unter gleichen Verhältnissen Kohlendioxyd und eine Säure mit einem Kohlenstoffatom weniger entstehen. Da die Aminosäuren zu Aldehyden abgebaut werden, diese aber nicht aus den Ketosäuren hervorgehen können, muss die Dekarboxylierung vor der Desamidierung stattfinden. Vieles spricht für die Bildung einer Iminosäure als intermediäres Produkt. Die Reaktionsstufen sind daher wohl:

$$R.CH(NH_2).COOH \quad -2H \longrightarrow R.C{=}NH.COOH \text{(Iminosäure)}.$$

$$\longrightarrow R.C{=}NH.H \text{ (Aldimin)} + CO_2 \longrightarrow + H_2O\ R.C(=O)H + NH_3$$

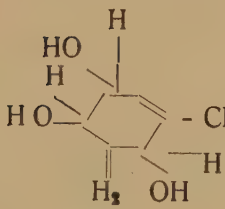
Die tertiäre Aminobuttersäure $(CH_3)_2\,C(NH_2).\,COOH$ wird nicht oxydiert, weil keine Dehydrierung zur Iminosäure eintreten kann.

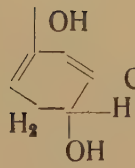
Wielands Versuche waren nur Modellversuche, die nicht ohne weiteres zur Deutung der biologischen Oxydation der Aminosäuren

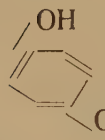
herangezogen werden können. Der Oxydationsmechanismus ist somit in seinen einzelnen Zwischenstufen noch nicht endgültig bewiesen.

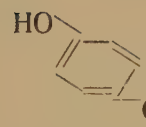
Der Abbau des Tyrosins (Oxy-Phenyl-Aminopropionsäure) zu Homogentisinsäure (p-Dioxy-Phenylessigsäure), die sich im Harn von Alkaptonurikern findet u. die sich in alkalischem Medium zu schwarzbraunen Produkten oxydiert, (191) war nach den früheren Theorien in seinem chemischen Verlauf gänzlich unverständlich. Erst Wielands Schema (182) gibt eine befriedigende Erklärung des Reaktionsverlaufes.

Abbau des Tyrosins zu Homogentisinsäure:









Es sei hier auch die wahrscheinliche Bildung von Adrenalin (Methylaminoäthanolbrenzkatechin) $C_6H_3(OH_2)$. $CH(OH.)$ CH_2. NH CH_3 aus Tyrosin erwähnt und der noch hypothetische Zusammen-

hang der Melaninbildung aus Adrenalin und Tyrosin bei der Addisonschen Krankheit durch die Bertrandsche Tyrosinase (59).

Eine Anomalie des Eiweisstoffwechsels ist die Alkaptonurie. Eingabe von Tyrosin und Phenylalanin vermehrt, wie zuerst Wolkow und Baumann (191) beobachteten, bei Alkaptonurikern die Menge der Homogentisinsäure im Harn. Die Stoffwechselanomalie bei der Alkaptonurie würde also in der Unfähigkeit des Körpers zu suchen sein, die aromatischen Aminosäuren über Homogentisinsäure unter Spaltung des Benzolringes zu verbrennen. Oxydation der Säure, die ein Hydrochinonderivat darstellt, führt zu einem Farbstoff mit chinoider Bindung. Nach den Untersuchungen von Fromherz und Hermanns (54) jedoch verläuft der Abbau der aromatischen Aminosäuren nicht ausschliesslich über Homogentisinsäure, sondern auch auf anderen Wegen wie z. B. über Brenzkatechinderivate. Beim Alkaptonuriker ist wahrscheinlich nur der Abbau über Homogentisinsäure verschlossen.

Der Abbau der Purinbasen, Spaltungsprodukte der Nukleoproteide, passt gut in den Rahmen der Dehydrierungstheorie und bildet eine der wichtigsten Stützen für Wielands Anschauungen über die langsame Verbrennung im Körper. Die Purinbasen leiten sich von dem von E. Fischer synthetisch hergestelltem Purin her. Die physiologisch wichtigsten Purine sind Harnsäure = 2, 6, 8-Trioxypurin, Xanthin = 2, 6-Dioxypurin, Theophyllin = 1, 3-Dimethyl-2, 6-Dioxpurin, Theobromin = 3, 7-Dimethyl-2, 6-Dioxypurin, Koffein = 1, 3. 7-Trimethyl-2, 6-Dioxypurin, Hypoxanthin = 6-Oxypurin, Guanin = 2-Amino-6-Oxypurin und Adenin = 6-Aminopurin.

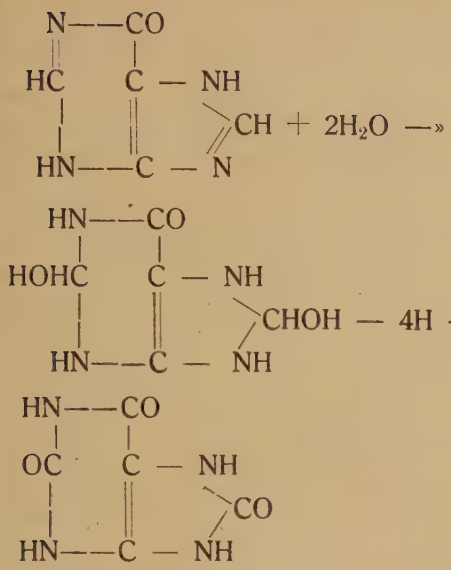
Schittenhelm (120, 121, 122), Burian (28), Jones und Mitarbeiter haben durch eingehende Untersuchungen gezeigt, dass beim Abbau der Purinbasen verschiedenartige Enzyme zusammenwirken. Durch die Desamidierungsfermente „Adenase“ und „Guanase“ werden zunächst Adenin und Guanin in Hypoxanthin bzw. in Xanthin übergeführt. Hypoxanthin wird dann zu Xanthin oxydiert. Letzteres wird durch ein Oxydationsferment, von Burian „Xanthinoxydase“ genannt, das wahrscheinlich mit dem Hypoxanthin abbauenden Ferment identisch ist, zu Harnsäure oxydiert. Das Ferment kann nach Schittenhelm (120) aus Rindermilz durch Fällung mit Ammonsulfat hergestellt werden. Auch in der Leber, Niere, Lunge, und fast allen Organen ist das Enzym wie auch die Desamidasen nachgewiesen worden.

Die Purinbasen werden durch Oxydationsmittel nur schwer zu Harnsäure oxydiert, während tierisches Gewebe eine starke Harnsäurebildung bewirkt. Die methylierten Purine (Koffein, Theobromin, Theozin) machen davon eine Ausnahme. Sie sind durch die Methylgruppen vor dem Abbau geschützt.

Die Herstellung von hoch wirksamen Enzympräparaten wurde relativ leicht, als Morgan, Stewart und Hopkins (93) gefunden hatten, dass die Xanthinoxydase in der Kuhmilch vorkommt. Dixon und Thurlow (35) haben das Agens aus Milch in konzentrierter Form erhalten. In noch reinerer Form als klare Lösung von 4000 mal grösserer Aktivität als Milch ist es von Dixon und Kodama (39) hergestellt worden. Das Ferment verhält sich wie eine typische Oxydoreduktase, d. i. wie eine Dehydrase in Wielands Sinne.

Die Xanthinoxydase wirkt sehr spezifisch auf die unter ihrem Einfluss oxydierten Moleküle. Auf der anderen Seite ist sie auf die Substanzen, die als Wasserstoffakzeptor dienen, sehr unspezifisch eingestellt. Dixon (38) hat eine ganze Anzahl von Substanzen untersucht, die anaerob unter Reduktion bei Gegenwart des Enzyms Hypoxanthin und Xanthin zu Harnsäure dehydrieren. Abgesehen von Sauerstoff hat Dixon reduzierende Farbstoffe und verschiedene Agentien geprüft wie Nitrate, Dinitrobenzol, Pikrinsäure, Alloxan und Chinon. Keiner dieser Stoffe oxydiert die Purinbasen zu Harnsäure bei Abwesenheit von Enzym.

Die Ueberführung von Hypoxanthin bzw. Xanthin in Harnsäure verläuft sowohl unter aeroben wie anaeroben Bedingungen, falls in letzterem Falle Wasserstoffakzeptoren z. B. Methylenblau, Chinon oder Nitrate zugegen sind. Die Oxydation = Dehydrierung geht in der Weise vor sich, dass zuerst das Xanthin bzw. Hypoxanthinmolekül hydratisiert wird, dann das Hydrat dehydriert wird. Die Hydratbildung ist mit Lösung einer Doppelbindung verbunden. Die am Stickstoff methylierten Purine enthalten diese Doppelbindung nicht mehr, können deshalb auch nicht Wasser anlagern und werden daher nicht zu Harnsäure dehydriert.



Die Dehydrierung von Xanthin verläuft ganz analog.

Die Reaktionsgeschwindigkeit wird durch die Gegenwart von Cyaniden nicht beeinflusst, sie wächst auch nicht durch Hinzufügen von Eisenpräparaten. Bei der aeroben Oxydation wird Wasserstoffperoxyd gebildet (142), das zugesetztes Nitrit zu Nitrat oxydiert (57, 58). Die biologische Oxydation der Purinbasen liefert also in allen Punkten ein sehr vollkommenes Bild der Wielandschen Dehydrierungstheorie.

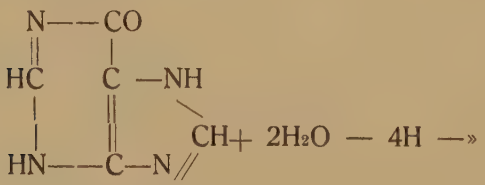
In jüngster Zeit hat Bach (13, 14) darauf hingewiesen, dass die Xanthinoxydase, die mit dem Schardingerschen Enzym vielleicht identisch ist (38), auch bei Abwesenheit von Sauerstoff und ohne Mitwirkung fremder Wasserstoffakzeptoren Xanthin in Harnsäure überführt und dass das Ferment nicht in direkter Beziehung zur Oxydation der Purinbasen steht. Es soll vielmehr lediglich eine Art Cannizzarosche Umlagerung der Purinbasen in Harnsäure und noch unbekannten Reduktionsprodukten beschleunigen. Anwesenheit von Sauerstoff übt nach ihm keinen Einfluss auf die Umwand-

lung der Purinbasen in Harnsäure (14) und des Salizylaldehyds in Salizylsäure (13) aus. Die Schlussfolgerung von Bach erscheint jedoch nicht ganz einwandfrei, da Wieland (172) in einer Arbeit über die Schardingersche Reaktion die Einheit des Fermentes als Dehydrase bewiesen hat. Die Reduktase, Oxydase und Aldehydmutase sind identisch. Ferner bewirkt der durch das Reaktionsgemisch geleitete Luftstrom eine starke Schädigung des Fermentes, so dass weniger Substrat in Säure verwandelt wird, als durch Dismutation in einer Atmosphäre von reinem Stickstoff entsteht.

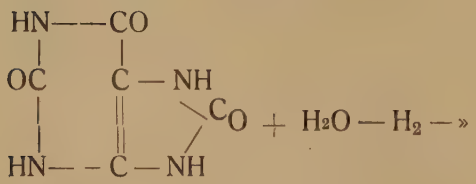
Die Harnsäure wird bei den meisten Säugetieren durch ein spezifisches Ferment, Urikase oder auch Urikolase genannt, unter Aufnahme von Sauerstoff und Abgabe von Kohlendioxyd in Allantoin übergeführt. Das Allantoin scheint im Körper nicht mehr weiter verändert zu werden. Es wird durch den Harn ausgeschieden und nicht in Harnstoff verwandelt. Die Harnsäure ist daher nur ein Zwischenprodukt im Purinstoffwechsel und findet sich im Säugetierharn in der Regel nur in ganz geringer Menge.

Beim Menschen liegen die Verhältnisse anders. Die Harnsäure bildet hier das Schlussprodukt des Purinstoffwechsels, wenn auch bei ihm eine minimale Allantoinbildung vorkommt.

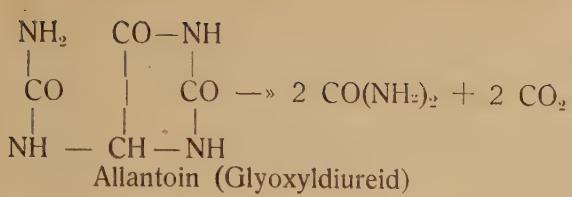
Ein Abbau der Harnsäure zu Harnstoff ist bis jetzt nicht sicher einwandfrei bewiesen worden (97), wenn auch seine Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen ist, wie die genetischen Beziehungen der Verbindungen zeigen.



Hypoxantin



Harnsäure



Allantoin (Glyoxyldiureid)

Das Enzym Urikase ist von Schittenhelm (98) in hoch aktiver Form erhalten worden und fehlt wahrscheinlich in den Organen des Menschen vollständig. Durch Mangel an Ferment bleibt bei ihm die Allantoinbildung aus Harnsäure aus. Hiermit stimmt überein, dass Ablagerungen von Harnsäure in den Gelenken bisher nur beim Menschen beobachtet wurden.

Das urikolytische Ferment ist kein einheitliches Enzym. Es enthält sowohl eine hydratisierende, dehydrierende und decarboxylierende Komponente.

V.) Umwandlung der Kohlehydrate in Fett.

Die biologische Umwandlnng der Kohlehydrate in Fette ist ein endothermer Vorgang, also mit einer negativen Wärmetönung verbunden. Die zum Zustandekommen der Reaktion notwendige Energie deckt die Zelle durch Koppelung mit einem Dehydrierungsvorgang. Bei der Cannizzaroschen Reaktion dient die Gruppe C- = O als Wasserstoffakzeptor. In gleicher Weise tritt auch die Kohlenstoffdoppelbindung -C = C- als Wasserstoffakzeptor in Tätigkeit.

Die Synthese der Fettsäuren aus Kohlehydrat ist nach Wieland (181, 182) die Folge von mehrfacher abwechselnder Dehydratisierung und Hydrierung des Kohlehydratmoleküls. Aus der -CHOH-CHOH-Gruppe entsteht durch Abspaltung von Wasser die -CO-CH_2-Gruppe, die Wasserstoff aufnimmt und in die -CHOH-CH_3-Gruppe übergeht. Erneute Abspaltung von Wasser führt zu einer Kohlenstoffdoppelbindung -CH=CH-, die die dehydrierenden Fermente der Zelle als Wasserstoffakzeptor benutzen können. Damit ist die Umformung des Kohlehydratmoleküls zu einer Fettsäure beendet. Nach Wielands Auffassung können in dieser Weise auch die ungesättigten Fettsäuren, wie Oelsäure und Linolensäure ent-

stehen. Sie sind dann als Zwischenprodukte der Fettsäuresynthese aus Kohlehydrat aufzufassen. Die Umwandlung der Kohlehydrate in Fettsäure lässt sich durch nachstehendes Schema wiedergeben:

$$\text{-CHOH-CHOH} \xrightarrow{-H_2O} \text{-CO-CH}_2\text{-} \xrightarrow{+2H} \text{-CHOH-CH}_2\text{-}$$

$$\xrightarrow{-H_2O} \text{-CH=CH-} \xrightarrow{+2H} \text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$$

Der Aufbau der Stearinsäure (C_{18}) ist theoretisch auf verschiedenen Wegen denkbar. Einmal können sich drei Hexosemoleküle aldolartig kondensieren, woraus dann durch Dehydratisierung und Hydrierung die Stearinsäure hervorgeht.

$$\begin{matrix} & H_2 & & \\ & \| & & \\ \text{-C} & & \text{O=C-} & \end{matrix} \quad \begin{matrix} | \\ \text{OH} \end{matrix} \qquad \begin{matrix} | \\ \text{H} \end{matrix} \quad \xrightarrow{} \quad \text{-CHOH-CHOH-}$$

Auch ist eine hydrierende Kondensation der Pinakonbildung entsprechend zu erwägen:

$$\begin{matrix} \text{-C=O} \\ | \\ \text{H} \end{matrix} \qquad \begin{matrix} \text{O=C-} \\ | \\ \text{H} \end{matrix} \quad \xrightarrow{+2H} \quad \text{-CHOH-CHOH-}$$

Nach der allgemeinen Auffassung jedoch erfolgt die Umwandlung von Kohlehydrate in Fett über die einfachen Bausteine, wie Acetaldehyd und Essigsäure, die sich zu längeren Ketten durch intermolekulare Umlagerungen kondensieren.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Professor Dr. Otto Frank für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, sowie Herrn Professor Dr. Amandus Hahn für die Überlassung des Themas und die Unterstützung, die er mir hat zuteilwerden lassen, an dieser Stelle meinen besten Dank zu sagen.

D.) Literaturverzeichnis.

1.) **Abderhalden und Wertheimer:** Weitere Studien über Autoxydationen. Pflügers Archiv 199 (1923) S. 336.

2.) Dieselben: Weitere Studien über Autoxydationen bzw. Oxydoreduktionsvorgänge. Ebenda 200 (1923) S. 176.

3.) **Ahlgren:** Ueber die spontanreduzierende Einwirkung der Muskulatur auf Methylenblau. Skand. Arch. f. Physiol. 41 (1921). S. 1.

4.) Derselbe: Zur Kenntnis der tierischen Gewebsoxydation, sowie ihre Beeinflussung durch Insulin, Adrenalin, Thyroxin und Hypophysenpräparate. Ebenda 47, suppl. (1925) S. 1.

5.) **Bach und Chodat:** Untersuchungen über die Rolle der Peroxyde in der Chemie der lebenden Zelle. IV. Ueber Peroxydase. Ber. 36 (1903) S. 600.

6.) Dieselben: Untersuchungen über die Rolle der Peroxyde in der Chemie. Ueber Katalase. Ber. 36. (1903) S. 1756.

7.) **Bach und Tscherniak:** Zur Reinigung der Peroxydase. Ber. 41 (1908) 2345.

8.) **Bach:** Spaltung des Wassers durch Hypophosphite in Gegenwart von Palladiuum als Katalysator. Ber. 42 (1901) S. 4463.

9.) Derselbe: Zur Theorie der Oxydasewirkung. I. Mangan- und eisenfreie Oxydasen. Ber. 43 (1910) S. 364.

10.) Derselbe: Zur Theorie der Oxydasewirkung. II. Einfluss der Metallsalze auf die weitere Umwandlung der Produkte der Oxydasewirkung. Ber. 43 (1910) S. 366.

11.) Derselbe: Zur Kenntnis der Reduktionsfermente. I. Bioch. Z. 31 (1911) S. 443.

12.) Derselbe: Zur Kenntnis der Reduktionsfermente. II. Bioch. Z. 33 (1911) S. 282.

13.) Derselbe und **Nikolajew:** Sind sauerstoffübertragende Enzyme mit wasserstoffübertragenden identisch? Bioch. 169 (1926) S. 105.

14.) Derselbe und **Michlin:** Enzymatische Umwandlung des Xanthins und Hypoxanthins in Harnsäure ohne Mitwirkung fremder Wasserstoffakzeptoren. Ber. 60 (1927) S. 82.

15.) **Batelli und Stern:** Ueber die Peroxydasen der Tiergewebe. Bioch. Z. 29 (1910) S. 130.

16.) **Batelli und Stern:** Die Aldehydasen in den Tiergeweben. Bioch. Z. 29 (19109) S. 130.

17.) Dieselben: Die Oxydation der Bernsteinsäure durch Tiergewebe. Bioch. Z. 30 (1910) S. 172.

18.) Dieselben: Die Oxydation der Zitronensäure und Fumarsäure durch Tiergewebe. Bioch. Z. 31 (1911) S. 478.

19.) Dieselben: Zur Kenntnis des Pneins. Bioch. Z. 33 (1911) S. 315.

20.) Dieselben: Die Oxydationsfermente. Ergebn. der Physiol. 12 (1912) S. 96.

21.) Dieselben: Recherches sur la fumarase, type de ferments hydratants, dans les tissus animaux. Cpt. rend. des séances de la soc. biol. 84, Nr. 6, S. 305—307. Zit. nach Ber. ges. Physiol. 7 (1921) S. 468.

22.) Dieselben: Le méchanisme d'action des ferments oxydants et des ferments réducteurs. Arch. intern. de Physiol. 18 (1921) S. 403.

23.) **Bertrand:** Sur le latex de l'arbre à laque. Compt. rend. Acad. Science 118 (1894) S. 1215.

24.) Derselbe: Sur l'action oxydante des sels manganeux et sur la constitution chimiques des oxydases. Compt. rend. 124 (1897) S. 1355.

25.) **Bissinger, Lesser und Zipf:** Der Mechanismus der Insulinwirkung. Klin. Wochenschrift 2 (1923) S. 2233.

26.) **Bredig und Müller:** Ueber anorganische Fermente I. Ueber Platinkatalyse und die chemische Dynamik des Wasserstoffsuperoxyds. Z. f. physikal. Chem. 31 (1899) S. 258.

27.) Derselbe und **Sommer:** Die Schardingersche Reaktion und ähnliche enzymartige Katalysen. Ebenda 70 (1909) S. 34.

28.) **Burian:** Ueber die oxydative und die vermeintliche synthetische Bildung von Harnsäure im Rinderleberextrakt. Hoppe-Seyler 43 (1905) S. 497

29.) **Carlson:** Die Guajakblutprobe und die Ursachen der Blaufärbung der Guajaktinktur. Hoppe-Seyler 48 (1906) S. 69.

30.) **Cannan Cohen und Clark:** Pub. Health Reports Treasury Dep. U. S. A. Supplement 55.

31.) **Clark, Cohen und Gibbs:** Studies on Oxidation-Reduction. VIII. Ebenda 40 (1925) S. 113.

32.) **Chodat und Bach:** Untersuchungen über die Rolle der Peroxyde in der Chemie der lebenden Zelle. V. Zerlegung der sog. Oxydasen in Oxygenasen und Peroxydasen. Ber. 36 (1903) S. 606.

33.) **v. Czyhlarz und Fürth:** Ueber tierische Peroxydasen. Hofmeisters Beiträge 10 (1907) S. 358.

34.) **Dixon und Tunnicliffe:** The oxydation of reduced Glutathione and other sulphhydryl compounds. Proc. of the royal soc. of London. B. 94 (1924). S. 266.

35.) Derselbe und **Thurlow:** Studies on xanthine-oxydase. i. Preparation and properties of the active material. II. The dynamics of the oxidase-system. III. The reduction of Nitrates. Biochem. Journal 18 (1924) S. 971, 976, 987.

36.) Dieselben: Studies on Xanthinoxydase. Bioch. Journal 19 (1925) 672.

37.) Derselbe und **Quastel:** A new type of reduction-oxydation system Part. I. Cysteine and Glutathione. Journal Chem. Soc. 123/124 (1923) 2943.

38.) Derselbe: Studies on xanthineoxidase. VII. Bioch. Journ. 20 (1926) S. 703.

39.) Derselbe und **Kodama:** On the further purification of the xanthine oxidase. Bioch. Journ. 20 (1926) S. 1104.

40.) **Dreser:** Histochemisches zur Nierenphysiologie. Z. f. Biol. 21 (1885) S. 41.

41.) **Einbeck:** Ueber das Vorkommen von Bernsteinsäure im Fleischextrakt und im frischen Fleische. Hoppe-Seyler. 87 (1913) S. 145.

42.) Derselbe: Ueber das Vorkommen der Fumarsäure im frischen Fleische. Ebenda 90 (1914) S. 301.

43.) Derselbe: Ueber quantitative Versuche mit dem Succinicoxydon von Battelli und Stern. Bioch. Z. 95 (1919) S. 296.

44.) **Embden, Salomon und Schmitt:** Ueber Acetonbildung in der Leber. Hofmeisters Beiträge 8 (1906) S. 129.

45.) Derselbe und **Marx:** Ueber Acetonbildung in der Leber. Ebenda 11 (1908) S. 318.

46.) Derselbe, **Baldes und Schmitz:** Ueber den Chemismus der Milchsäurebildung aus Traubenzucker im Tierkörper .Bioch. Z. (1912) 108.

47.) Derselbe und **Oppenheimer:** Ueber den Abbau der Brenztraubensäure im Tierkörper Ebenda 45 (1912) S. 186.

48.) **Engler und Herzog:** Zur chemischen Erkenntnis biologischer Oxydationsreaktionen. Hoppe-Seyler 59 (1909) S. 327.

49.) **Euler und Bolin:** Zur Kenntnis biologisch wichtiger Oxydationen. Hoppe-Seyler 61 (1909) S. 72.

51.) **Fleisch:** Some oxidation processes of normal and cancer tissue. Bioch. Journal 18 (1924) S. 294.

52.) **Fletcher und Hopkins:** Lactid acid in amphibiam muscle. The Journ. of Physiol. 35 (1906—1907) S. 247.

53.) **Friedmann und Maase:** Ueberführung von Krotonsäure in 1-β-Oxybuttersäure durch Leberbrei. Bioch. Z. 55 (1913) S. 450.

54.) **Fromherz und Hermanns:** Ueber den Abbau der aromatischen Aminosäuren im Tierkörper nach Versuchen am Normalen und am Alkaptonuriker. Hoppe-Seyler 91 (1914) S. 194.

55.) **Gall und Manchot:** Katalytische Hydrierungen anorganischer Substanzen. Ber. 58 (1925) S. 482.

56.) **Gottschalk:** Der Acetaldehyd im intermädiären Zellstoffwechsel. Klin. Wochenschrift 3 (1924) S. 713.

57.) **Haas und Hill:** Observations on certain reducing and oxidising reaktions in milk. Bioch. Journ. 17 (1923) S. 671.

58.) Derselbe und **Lee:** Further observations on certain reducing and oxidising reaktions in milk. Ebenda 18 (1924) S. 614.

59.) **Hammersten:** Lehrbuch der physiol. Chemie. 11. Auflage (1926).

60.) **Harden und Young:** The alcoholic ferment of yeast-juice. Proc. royal soc. London 77 (1906) S. 405.

61.) Dieselben: The alcoholic ferment of yeast-juice. The coferment of yeast-juice. Ebenda 78 (1906) S. 369.

62.) **Harrison:** The catalytic action of traces of iron on the oxidation of cysteine and gluthatione. Bioch. Journ. 18 (1924) S. 1009½.

63.) Derselbe und **Thurlow:** The secondary oxidation of some substances of physiological interest. Ebenda 20 (1926) S. 217.

64.) **Heffter:** Die reduzierenden Bestandteile der Zelle. Med. naturw. Arch. 1, (81—104) Marburg. Zit. nach Chem. Centralblatt 2 (1907) 822.

65.) Derselbe: Gibt es reduzierende Fermente im Tierkörper? Arch. f. exper. Path. und Pharm. Schmiedeberg Festschrift 253 (1908).

66.) **Hennichs:** Zur Kenntnis der Katalase und ihre Beziehung zu biologischen Oxydationen Bioch. Z. 171 (1926) S. 314.

67.) **Hopkins:** On an autoxidable constituent of the cell. Bioch. Journ. 15 (1921) S. 286.

68.) Derselbe: Biochem. Journ. 19 (1925) S. 787.

69.) **Hoppe-Seyler:** Ueber Gärungsprozesse. Hoppe-Seyler 1 (1878) S. 2.

70.) **Jacquet:** Ueber die Bedingungen der Oxydationsvorgänge in den Geweben. Arch. f. exper. Pathol. und Pharm. 29 (1892) S. 386.

71.) **Mc Leod und Gordon:** Bioch. Journ. 16 (1922) S. 499.

72.) **Lesser:** Ueber das Wesen des Pankreasdiabetes. Bioch. Z. 103 (1920) S. 1.

73.) **Lipschütz:** Mechanismus der Giftwirkung aromatischer Nitroverbindungen, zugleich ein Beitrag zum Atmungsproblem tierischer und pflanzlicher Zellen. Hoppe-Seyler 109 (1920) S. 189.

74.) Derselbe und **Gottschalk:** Die Reduktion der aromatischen Nitrogruppe als Indikator von Teilvorgängen der Atmung und der Gärung. Pflügers Arch. 191 (1921) S. 1.

75.) Derselbe und **Hartwig:** Erhaltung der Funktion aerober Zellen bei Ersatz des freien Sauerstoffs durch chemisch gebundenen: Pseudoanoxybiose. III. Versuche mit Spermatozoen. Ebenda 191 (1921) S. 51.

76.) Derselbe: Ueber den Mechanismus der Zelloxydationen und der Blausäurewirkung. Ebenda 196 (1922) S. 463.

77.) Derselbe: Bemerkungen zu der Abhandlung von Prof. Winterstein „Zur Kenntnis der biologischen Bedeutung von Wasserstoffacceptoren". Ebenda 198 (1923) S. 648.

78.) Derselbe und **Osterroth:** Ueber die biologische Reduktion aromatischer Nitroverbindungen. Ebenda 205 (1924) S. 354.

79.) Derselbe und **Meyer:** Ueber die anaerobe Kohlensäureproduktion von Muskelzellen bei Gegenwart von Wasserstoffacceptoren. Ebenda 105 (1924) S. 366.

80.) **Löb:** Ueber das Verhalten der Essigsäure bei künstlicher Durchblutung der Leber. Bioch. Z. 45 (1912) S. 118.

81.) Derselbe: Beziehungen zwischen Zuckergehalt der Erythrozyten und Glykolyse. Bioch. Z. 49 (1913) S. 413.

82.) Derselbe: Ueber die Milchsäurebildung aus Traubenzucker, Glycerinaldehyd und Dioxyaceton im Rinder- und Schweineblute. Ebenda 50 (1913) S. 451.

83.) **Loew:** Spielt Wasserstoffsuperoxyd eine Rolle in der lebenden Zelle? Ber. 35 (1902) S. 2487.

84.) **Mathews und Walker:** The action of metals and strong salt solutions on the spontaneous oxidation of cysteine. The Journ. of biol. Chemistry 6 (1909) S. 299.

85.) **Mecke:** Bandensprektra. Physikal. Z. 26 (1925) S. 217.

86.) **Meyerhof:** Ueber scheinbare Atmung abgetöteter Zellen durch Farbstoffreduktion. (Versuche mit Acetonhefe.) I. Pflügers Arch. 149 (1912) S. 250.

87.) Derselbe: Ueber das Vorkommen des Coformentes der alkoholischen Hefegärung und seine mutmassliche Bedeutung im Atmungsmechanismus. Hoppe-Seyler. 101 (1918) S. 165.

88.) Derselbe. Die Energieumwandlungen im Muskel. IV. Pflügers Arch. 188 (1921) S. 114.

89.) Derselbe: Untersuchungen zur Atmung getöteter Zellen. II. Ebenda 170 (1918) S. 367.

90.) Derselbe: Ueber die Atmung der Froschmuskulatur. Ebenda 175 (19919 S. 20.

91.) Derselbe: Ueber ein neues autoxydables System der Zelle. Ebenda 199 (1923) S. 531.

92.) Derselbe und **Matsuoka** Ueber den Mechanismus der Fruktoseoxydation in Phosphatlösungen. Bioch. Z. 150 (1924) S. 1.

93.) **Morgan, Stewart und Hopkins:** On the anaerobic and aerobic oxidation of xanthine and hypoxanthine by tissues and by milk. (Proc. roy. soc. London. B. 94. (1922) S. 109.

94.) **Neubauer:** Ueber den Abbau der Aminosäuren im gesunden und kranken Organismus. Arch. f. klin. Med. 95 (1909) S. 246.

95.) Derselbe und **Fromherz:** Ueber den Abbau der Aminosäuren bei der Hefegärung. Hoppe-Seyler 70 (1910/11) S. 326.

96.) **Neuberg:** Ueber die Zerstörung von Milchsäurealdehyd und Methylglyoxal durch tierische Gewebe. Bioch. Z. (1913) S. 502.

97.) Derselbe: Weitere Untersuchungen über die biochemische Umwandlung von Methylglyoxal in Milchsäure nebst Bemerkungen über die Entstehung der verschiedenen Milchsäuren in der Natur. Ebenda 51 (1913) S. 484.

98.) Derselbe und **Färber:** Ueber die Wirkung der Carboxylase. Ebenda 79 (1917) S. 376.

99.) Derselbe: Von der Chemie der Gärungserscheinungen. Ber. 55 (1922) S. 3624.

100.) Derselbe, **Gottschalk und Strauss:** Das Eingreifen von Insulin in Abbauvorgänge der tierischen Zelle. Deutsch. Med. Wochenschr. 49 (1923) S. 1407.

101.) Derselbe und **Gottschalk:** Quantitative Untersuchungen über die Bildung und Herkunft des Acetaldehyds im intermediären Zellstoffwechsel der Warmblüter. Bioch. Z. 146. (1924) S. 164.

102.) **Ohlson:** Die Abhängigkeit der Wirkung der Succinodehydrogenase von der Wasserstoffionenkonzentration. Skand. Arch. f. Physiol. 41 (1921) S. 77.

103.) **Onslow:** Oxidising enzymes. The oxigenase of the higher plants. Bioch. Journ. 18 (1924) S. 549.

104.) Dieselbe und **Robinson:** Oxidising enzymes IX. On the mechanism of plant oxidase. Ebenda 20 (1926) S. 1138.

105.) **Parnas:** Ueber fermentative Beschleunigung der Cannizzaroschen Aldehydumlagerung durch Gewebssäfte. Bioch. Z 28 (1910) S. 274.

106.) **Porges:** Ueber den Abbau der Fettsäuren im Organismus. Ergebn. der Physiol. 10 (1910) S. 32.

107.) **Quastel Stewart und Tunnicliffe:** On glutathione. VI. Constitution. Bioch. Journ. 17 (1923) S. 586.

108.) Derselbe und **Whetham:** The equilibria existing between succinic, fumaric and malic acids in the presence of resting bacteria. Ebenda 18 (1924) S. 519.

109.) Derselbe: On the fermentation of the unsaturated dicarbolic acids. Part. I. Fumaric acid. Ebenda 18 (1924) S. 365.

110.) Derselbe und **Whetham:** Dehydrogenations produced by resting bacteria. I. und II. Ebenda 19 (1925) S. 520 und 640.

111.) Derselbe und **Wooldridge:** Dehydrogenations produced by resting bacteria. III. Ebenda 19 (1925) S. 652.

112.) Derselbe. **Stephenson und Whetham:** Some reactions of resting bacteria in relation to anaerobic growth. Ebenda 19 (1925) S. 304.

113.) Derselbe: Dehydrogenations produced by resting bacteria. IV. A theory of the mechanisms of oxidations and reductions in vivo. Ebenda 20 (1926) S. 166.

114.) **Robinson:** Haemoglobin and Methaemoglobin as oxidative catalysts. Ebenda 18 (1924) S. 255.

115.) Dieselbe: A comparison certain oxidising enzymes of the higher and lower plants. Ebenda 18 (1924) S. 543.

116.) Dieselbe und **Mc Cance:** Oxidative desamination by a basidiomycete. enzyme. Ebenda 19 (1925) S. 251.

117.) **Sakuma und Warburg:** Ueber die sog. Autoxydation des Cysteins. Pflügers Arch. 200 (1923) S. 1 203.

118.) Dieselben: Ueber die sog. Autoxydation des Cysteins. Bioch. Z. 142 (1923) S. 68.

119.) **Schardinger:** Z. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel 5 (1902) S. 22

120.) **Schittenhelm:** Ueber die Fermente des Nukleinstoffwechsels. Hoppe-Seyler 43 (1904) S. 228

121.) Derselbe: Ueber die Harnsäurebildung in Gewebsauszügen. Ebenda 42 (1904) S. 251.

122.) Derselbe. Ueber die Harnsäurebildung und die Harnsäurezersetzung in den Auszügen der Rinderorgane. Ebenda 45 (1905) S. 121.

123.) Derselbe: Ueber das urikolytische Ferment. Ebenda 45 (1905) S. 161.

124.) **Schmiedeberg:** Ueber Oxydationen und Synthesen im Tierkörper. Arch. f. exper. Path. und Pharm. 144 (1881) S. 288.

125.) **Senter:** Das Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Enzym des Blutes. I. Z. f. physikal. Chemie 44 (1903) S. 257.

126.) **Derselbe:** Das Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Enzym des Blutes. II. Ebenda 51 (1905) S. 673.

127.) **Stewart und Tunnicliffe:** Biochem. Journal 19 (1925) S. 207.

128.) **v. Szent-Györgyi:** Ueber den Mechanismus der Succin- und Paraphenylendiaminoxydation. Ein Beitrag zur Theorie der Zellatmung. Bioch. Z. 150 (1924) S. 195.

129.) Derselbe: Zellatmung. II. Mitteilung: Der Oxydationsmechanismus der Milchsäure. Zellatmung. III Mitteilung. Reaktivierungsversuch mit künstlichen Kofermenten. Ebenda 157 (1925) S. 50 und 67.

130.) Derselbe: Zellatmung. IV. Ueber den Oxydationsmechanismus der Kartoffeln. Ebenda 162 (1925) S. 399.

131.) **Thunberg:** Studien über die Beeinflussung des Gasaustauschs des überlebenden Froschmuskels durch verschiedene Stoffe. Skand. Arch. f. Physiol. 24 (1910) S. 23.

132.) Derselbe. Untersuchungen über autoxydable Substanzen und autoxydable Systeme von physiologischem Interesse. Ebenda 24 (1910) S. 90.

133.) Derselbe: Die biologische Bedeutung der Sulfhydrylgruppe. Ergebnisse der Physiol. 11 (1911)

134.) Derselbe: Studien über die Beeinflussung des Gasaustausches des überlebenden Froschmuskels durch verschiedene Stoffe. Skand. Arch. f. Physiologie 25 (1911) S. 37.

135.) Derselbe: Untersuchungen über autoxydable Substanzen und autoxydable Systeme von physiologischem Interesse. Zur Kenntnis einiger autoxydabler Thioverbindungen. Ebenda 30 (1913) S. 283.

136.) Derselbe: Ueber die vitale Dehydrierung der Bernsteinsäure bei Abwesenheit von Sauerstoff. Zentralblatt f. Physiol. 31 (1916) S. 91.

137.) Derselbe: Zur Kenntnis der vitalen Bernsteinsäureoxydation. Skand. Arch. 33 (1916) S. 223.

138.) Derselbe: Zur Kenntnis der Einwirkung tierischer Gewebe auf Methylenblau. Ebenda 35 (1917) S. 163.

139.) Derselbe: Zur Kenntnis des intermediären Stoffwechsels und der dabei wirksamen Enzyme. Ebenda 40 (1920) S. 1.

4140.) Derselbe: Das Reduktions-Oxydationspotential eines Gemisches von Succinat-Fumarat. Ebenda 46 (1925) S. 339.

141) **Derselbe:** Atmung und Oxydation **Orlof Hammerstens** Lehrbuch der physiologischen Chemie. XII. Auflage. (1926.)

142.) **Thurlow:** Biochem. Journ. 19 (1925) S. 175.

143.) **Traube:** Zur Theorie der Fermentwirkungen. Poggendorfs Annalen 103. (1858) S. 331.

144.) Derselbe: Zur Theorie der Fermentwirkungen. Chem. Ber. 7 (1874) S. 115.

145.) Derselbe: Ueber Aktivierung des Sauerstoffs. Ber. 15 (1882) S. 659 und 2421.

146.) Derselbe: Ueber Mitwirkung des Wassers bei der langsamen Verbrennung des Kohlenoxyds und das Auftreten von Wasserstoffsuperoxyd bei dieser Verbrennung. Ber. 18 (1885) S. 1890.

147.) Derselbe: Ueber die Entstehung von Wasserstoffsuperoxyd bei der Verbrennung des Wasserstoffs. Ber. 18 (1885) S. 1894.

148.) **Trillat:** Influence activante d'une matière albuminoide sur l'oxydation provoquée par la manganèse. Compt. rend. 138 (1901) S. 94.

149) **Tunnicliffe:** Biochem. Journ. 19 (1925) S. 194.

150.) **Warburg:** Ueber die Oxydationen in lebenden Zellen nach Versuchen am Seeigelei. Hoppe-Seyler 66 (1910) S. 305.

151.) Derselbe: Beiträge zur Physiologie der Zelle, insbesondere über Oxydationsgeschwindigkeit in Zellen. Ergebnisse der Physiol. 14 (1914) S. 253.

152.) Derselbe: Ueber die Verbrennung der Oxalsäure an Blutkohle und die Hemmung dieser Reaktion durch indifferente Narkotika. Pflügers Arch. 155 (1914) S. 547.

153.) Derselbe: Ueber die Rolle des Eisens in der Atmung des Seeigeleies. Hppeo-Seyler 92 (1914) S. 231.

154.) Derselbe: Zellstruktur und Oxydationsgeschwindigkeit nach Versuchen am Seeigelei. Pflügers Arch. 158 (1914) S. 189.

155.) Derselbe: Ueber die Geschwindigkeit der photochemischen Kohlensäurezersetzung in lebenden Zellen. Bioch. Z. 100. (19199) S. 230.

156.) Derselbe und Negelein: Ueber die Reduktion von Salpetersäure in grünen Zellen. Ebenda 110 (1920) S. 66.

157.) Derselbe und **Ujesugi:** Ueber die Blackmannsche Reaktion. Ebenda 146 (1920) S. 486.

158.) Derselbe und **Negelein:** Ueber die Oxydation des Cystins und anderer Aminosäuren an Blutkohle. Ebenda 113 (1921) S. 255.

159.) Derselbe: Physikalische Chemie der Zellatmung. Ebenda 119 (1921) S. 134

160.) Derselbe: Ueber die antikatalytische Wirkung der Blausäure. Ebenda 136 (1923, S. 266.

161.) Derselbe: Ueber die Grundlagen der Wielandschen Atmungstheorie. Ebenda 142 (1923) S. 518.

162.) Derselbe und **Brefeld:** Ueber die Aktivierung stickstoffhaltiger Kohlen durch Eisen. Ebenda 145 (1924) S. 461.

163.) Derselbe **und Yabusoe:** Ueber die Oxydation von Fruktose in Phosphatlösungen. Ebenda 146 (1924) S. 382.

164.) Derselbe und **Sakuma:** Ueber die sogenannte Autoxydation des Cysteins. Pflügers Arch. 200 (1923) S. 203.

165.) Derselbe: Ueber Eisen, den sauerstoffübertragenden Bestandteil des Atmungsfermentes. Bioch. Z. 152 (1924) S. 477.

166.) Derselbe: Ueber Eisen, den sauerstoffübertragenden Bestandteil des Atmungsfermentes. Ber. 58 (1925) S. 1001.

167.) **Wieland:** Hydrierung und Dehydrierung. Ber 45 (1912) S. 484.

168.) Derselbe: Zur Verbrennung des Kohlenoxyds. Ber 45 (1912) S. 679.

169.) Derselbe: Ueber katalytische Umwandlung von Schwefeldioxyd in Schwefelsäure. Ber. 45 (1912) S. 685.

170.) Derselbe: Studien über den Mechanismus der Oxydationsvorgänge. I. Ber. 45 (1912) S. 260.

171.) Derselbe: Ueber den Mechanismus der Oxydationsvorgänge. (II) Ber. 46 (1913) S. 3327.
172.) Derselbe: dgl. (III) Ber. 47 (1914) S. 2085.
173.) Derselbe: dgl. (IV) Ber. 54 (1921) S. 2353.
174.) Derselbe: dgl. (V) Liebigs Annalen 431 (1923) S. 201.
175.) Derselbe: dgl. (VI) Ebenda 434 (1923) S. 185.
176.) Derselbe: dgl. (VII) Ebenda 436 1(923) S. 229.
177.) Derselbe und **Bergel:** (VIII) Ebenda 439 (1924) S. 196.
178.) Derselbe: dgl. (IX) Ebenda 445 (1925) S. 181.
179.) Derselbe und **Fischer:** dgl. (X) Ber. 59 (1926) S. 1171.
180.) Dieselben: dgl. (XI) Ber. 59 (1926) S. 1180.
(181.) Derselbe: Sammelvortrag. Ueber den Verlauf der Oxydationsvorgänge. Ber. 55 (1922) S. 3689.
182.) Derselbe: Ueber den Mechanismus der Oxydationsvorgänge. Ergebnisse der Physiologie. 20 (1922) S. 475.
183.) **Willstätter und Müller:** Zwei Formen von Orthochinon. Ber. 41 (1908) S. 2580.
184.) Derselbe und **Stoll:** Ueber Peroxydase. Annalen 416 (1917) S. 21
185.) Derselbe. Ueber Peroxydase. II. Ebenda 422 (1921) S. 47.
186.) Derselbe und **Waldschmitt-Leitz:** Ueber die Abhängigkeit der katalytischen Hydrierung von der Gegenwart des Sauerstoffs. Ber. 54 (1921) S. 113.
187.) Derselbe und **Pollinger:** Ueber peroxydatische Wirkung des Oxyhämoglobins. Hoppe-Seyler 130 (1923) S. 281.
188.) Derselbe und **Pollinger:** Ueber Peroxydase. III. Annalen 430 (1923) S. 269.
189.) **Wind:** Ueber die Oxydation von Dioxyaceton und Glyzerinaldehyd in Phosphatlösungen und die Beschleunigung der Oxydation durch Schwermetalle. Bioch. Z. 159 (1925) S. 58.
190.) **Winterstein:** Zur Kenntnis der biologischen Bedeutung von Wasserstoffakzeptoren. Pflügers Arch. 198. (1923) S. 501.
191.) **Wolkow und Baumann:** Ueber das Wesen der Alkaptonurie. Hoppe Seyler 15 (1891) S. 228.

Lebenslauf.

Am 5. April 1901 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Ernst Haarmann und seiner Frau Helene geb. Schillig, in Westerberg, Provinz Hannover, geboren. Ich besuchte zunächst das Realprogymnasium in Stadthagen (Schaumburg-Lippe) und dann nach Übersiedelung meiner Eltern nach Friedrichsthal (Saar) im Jahre 1914 das Realgymnasium in Sulzbach (Saar), das ich im März 1920 mit dem Zeugnis der Reife verliess, um mich dem Studium der Naturwissenschaften, speziell der Chemie, zu widmen. Im Wintersemester 1921/22 bezog ich die Universität München, wo ich mit Unterbrechung von einem Semester in Bonn im Sommersemester 1923 bis zum Schluss meines Studiums blieb. Im Wintersemester 22/23 trat ich zur medizinischen Fakultät über. Die ärztliche Vorprüfung legte ich unter Anrechnung von 2 naturwissenschaftlichen Semestern auf das Medizinstudium Ende Wintersemester 23/24 in München und die ärztliche Staatsprüfung im Wintersemester 26/27 ab. Nach beendigtem Examen am 16. Dezember trat ich sogleich als Medizinalpraktikant im physiologischen Institut ein, wo ich den ersten Teil meines praktischen Jahres ableiste.

Walter Haarmann.